Introducción a Bioquímica Clínica Veterinaria

Félix H. Díaz González,
Sérgio Ceroni da Silva

Colaboradores:
Álan Gomes Pöppl
José Joaquín Cerón
Rómulo Campos

Editorial Unillanos

1a. edición
2019

Díaz González, Félix H.
Introducción a Bioquímica Clínica Veterinaria / Félix H. Díaz González y Sérgio Ceroni da Silva. – Villavicencio: Editorial Unillanos, 2019. 1 ed.

p. 471, ilustraciones.; tablas. (21x28 cm)
Incluye: Bibliografia
ISBN (978-958-8927-43-5) ISBN Digital (978-958-8927-44-2)

1. Bioquímica Clínica Veterinaria. 2. Metabolismo. 3. Proteínas i. Ceroni da Silva, Sérgio

CDD 636.0896 ed. 21

Catalogación en la publicación – Biblioteca Universidad de los Llanos

Primera edición, 2019
Introducción a Bioquímica Clínica Veterinaria
ISBN: 978-958-8927-43-5
ISBN Digital: 978-958-8927-44-2

© Félix H. Díaz González
© Sérgio Ceroni da Silva
© Universidad de los Llanos

Coordinación editorial: Ana María Lombana Gracia
Diseño de cubierta y diagramación: CMYK Diseño e Impresos S.A.S.
Corrección de estilo: Julio Mateus

Editorial Unillanos, 2019
Kilómetro 12 vía Puerto López, vereda Barcelona
Email: editorialunillanos@unillanos.edu.co
www.editorial.unillanos.edu.co
Villavicencio, Meta

© 2017 **Editora da UFRGS**
Título original: Introdução à bioquímica clínica veterinária (3. ed. rev. e ampl.) – pertencente à Série Graduação

Impresión
CMYK Diseño e Impresos S.A.S.

Descargo de responsabilidad: la información contenida en este libro es producto del autor y por consiguiente no compromete la posición de la Universidad de los Llanos.

Prohibida la reproducción total o parcial, en cualquier medio, formato o propósito, sin la autorización escrita de la Editorial Unillanos.

Dedico este trabajo a mi amada hija Laurita,
a mi nieta Lupita y a mi compañera de lucha
y caminada Renildes
(FHDG)

Para Luiza y Aléxia, cuyas palabras constantes de apoyo y estímulo
fueron la fuerza motriz para que yo pudiera concluir este trabajo
("cuando termina?!", "falta mucho?!", "aún en este mismo capítulo?!").
A Kim, que presenció el trabajo de la primera versión del libro
y no entendía por qué aquello tenía prioridad sobre nuestros juegos de billar
en aquellas vacaciones de verano asoleado en la playa.
A todas las almas gemelas que hacen de la procrastinación un arte
y leen incluso dedicatorias para posponer el primer capítulo.
(SCS)

AUTORES

Félix Hilario Díaz González
Cuenta con formación en Medicina Veterinaria (Universidad Nacional de Colombia, 1979), maestría en Fisiología Animal (Universidad Nacional de Colombia, 1985), doctorado en Bioquímica y Fisiología Animal (Universidad Federal de Viçosa, 1991) y pos-doctorado en Bioquímica Clínica (Universidad de Murcia, España, 2007 y en la Universidad de Santiago de Compostela, España, 2012). Fue profesor de Bioquímica y Fisiología Veterinarias de la Universidad Nacional de Colombia - sede Bogotá (1983-1995) y desde 1996 es profesor en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul, donde actualmente es profesor titular. Es profesor-orientador del Programa de Posgrado en Ciencias Veterinarias de la UFRGS (Porto Alegre), actuando en las áreas de bioquímica clínica y trastornos metabólicos, endocrinos y carenciales en animales domésticos. Ha sido profesor invitado de la Universidad de los Llanos (Colombia), de la Universidad de Santiago de Compostela (España), de la Universidad de La República (Uruguay) y de la Universidad Nacional de Colombia (campus de Bogotá y Medellín).

Sérgio Ceroni da Silva
Es médico veterinario formado por la Universidad Federal do Rio Grande do Sul, con magister en Genética y Biología Molecular por la misma universidad y doctorado en Biología Molecular por la Universidad de Glasgow (Reino Unido). Desde 1987 es profesor de Bioquímica Clínica Veterinaria y Biología Molecular Aplicada en la Facultad de Veterinaria de la UFRGS, habiendo actuado también como investigador en el Centro de Biotecnología de esta misma universidad y profesor-orientador del Programa de Posgrado en Ciencias Veterinarias de la UFRGS (Porto Alegre).

COLABORADORES

José Joaquín Cerón
Es médico veterinario de la Universidad de Murcia (España), especialista en técnicas analíticas biosanitarias y doctor en Veterinaria por la misma universidad. Actualmente es docente de Patología Clínica Veterinaria en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, donde desarrolla investigaciones sobre biomarcadores sanguíneos en Medicina Veterinaria.

Rómulo Campos Gaona
Es médico veterinario formado por la Universidad Nacional de Colombia, magister en Ciencias Veterinarias por la misma universidad y doctor en Ciencias Veterinarias por la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (Brasil). Actualmente es docente de Fisiología y Reproducción Animal en la Universidad Nacional de Colombia, campus de Palmira.

Álan Gomes Pöppl
Es médico veterinario formado por la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (2004), con Residencia en Clínica y Cirugía de Pequeños Animales en el Hospital de Clínicas Veterinarias de la UFRGS (2006). Realizó maestría en Fisiología con énfasis en Endocrinología en el Laboratorio de Metabolismo y Endocrinología Comparada de la UFRGS (2008). Realizó doctorado en la UFRGS, en el área de Endocrinología y Metabolismo Animal. Actualmente es docente de la Facultad de Veterinaria de la UFRGS en el área de endocrinología clínica.

Prefacio a la Primera Edición en Idioma Español

La bioquímica clínica es un área cuya importancia está en constante crecimiento a nivel mundial. La 1ª edición en idioma portugués de este libro fue publicada en el año 2003 como una herramienta de apoyo didáctico a la materia ofrecida en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), en Porto Alegre (Brasil). Desde entonces la contribución de sus lectores, principalmente alumnos de varios cursos de medicina veterinaria y de posgrado, fue determinante en la publicación de la 2ª edición, en el 2006, y de una 3ª edición grandemente revisada y ampliada en el 2017.

Esta 1ª edición de la obra en idioma español de la Editorial Unillanos gana contenido en los aspectos clínicos de los principales trastornos metabólicos, endocrinos y carenciales de los animales domésticos. En esta oportunidad tuvo fundamental colaboración el endocrinólogo Álan Gomes Pöppl, profesor de la UFRGS, en los temas de trastornos endocrinos y de la diabetes (insípida y mellitus).

El presente libro, revisado, actualizado y ampliado en relación a la anterior edición, y que será la base para una futura 4ª edición en portugués, actualmente en preparación, mantiene su propuesta original de revisar aspectos de bioquímica fundamental y del metabolismo de tejidos, al mismo tiempo que aborda los conceptos de los trastornos metabólicos más comunes en veterinaria. Por la aceptación de la obra, los autores percibieron la importancia de ofrecer un texto en temas tanto básicos como aplicados, que puedan servir de fundamento en el momento de aplicar conocimientos en la clínica, la fisiología y la nutrición animal.

Creemos firmemente que el proceso de enseñanza-aprendizaje de la bioquímica debe basarse más en estructuras, estequiometría y rutas metabólicas que en nombres de compuestos. Basados en este principio, hacemos todos los esfuerzos para que las ilustraciones usadas, todas originalmente producidas para este libro, sirvieran realmente como elemento catalizador del conocimiento proporcionado en el texto. Para ello, todas las fórmulas estructurales y rutas metabólicas se confirmaron exhaustivamente en los principales bancos de datos, como PubChem (<www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, <www.kegg.jp>) y BioCyc (<biocyc.org>).

Agradecemos a nuestros colaboradores que nos acompañan desde la 2ª edición en portugués, los profesores José Joaquín Cerón, de la Universidad de Murcia (España), quien colaboró en el tema de proteínas y función renal, así como Rómulo Campos Gaona, de la Universidad Nacional de Colombia (campus Palmira), quien tuvo su contribución en el tema de trastornos de glúcidos y lípidos. Agradecimientos son necesarios también a las editoriales de la UFRGS (Porto Alegre, Brasil) y de la Universidad de Los Llanos (Villavicencio, Colombia) y a todos aquellos lectores que con sus comentarios sobre la obra, contribuyeron para mejorar la edición actual.

Los autores

Con el objetivo de apoyar a los docentes que adoptan este libro-texto, en la página <www.ufrgs.br/bioquimica/ibcv-es> está disponible el conjunto completo de las figuras, en presentaciones de Microsoft PowerPoint (pptx).

También se puede utilizar el *QR code* de abajo para conexión directa con la página que contiene el material suplementario.

Prólogo

El libro *Introducción a la bioquímica clínica veterinaria,* en su primera versión en español, nace de una necesidad sentida por estudiantes, profesionales e investigadores de las ciencias animales y veterinarias, de contar con literatura especializada en idioma español sobre la importancia de la bioquímica en el estudio de los principales trastornos metabólicos de los animales, asociados a los sistemas productivos.

En buena hora la Editorial Unillanos ha decidido apoyar la publicación de este libro, después de que fuesen publicadas tres versiones de él en portugués. Dicha iniciativa nació gracias a la cooperación interinstitucional de la Universidad de los Llanos con la Universidad Federal do Rio Grande do Sul, institución que ha cedido los derechos de publicar en español la obra. Los lazos con tan importante universidad brasilera han ido más allá de esta edición, pues ha permitido la movilidad internacional y facilitado las condiciones para que uno de los autores, el profesor Félix Díaz González, participara en el curso de Bioquímica Fisiológica, dando así su apoyo al nacimiento de la Maestría Investigativa en Sistemas Sostenible de Salud Producción Animal Tropical, en la Universidad de los Llanos, la cual hoy se precia por tener sus primeros catorce egresados.

Sin duda esta obra contribuirá a mejorar los procesos investigativos y la práctica clínica de los profesionales que desean desarrollar un mejor ejercicio de su labor, ya que reúne las experiencias de toda una vida académica e investigativa de destacados profesores en universidades brasileñas y europeas que han querido compartir sus experiencias a través de estas páginas.

Gratitud inmensa con las actuales directivas de la Universidad de los Llanos y el equipo editorial por permitir su publicación, así como para los autores de cada uno de los capítulos.

Agustín Góngora Orjuela
Profesor Titular
Director Maestría en Sistemas Sostenibles
de Salud Producción Animal Tropical
Universidad de los Llanos

Sumario

Capítulo 1 - Conceptos básicos sobre metabolismo

1.1 Bioenergética 25
Energía libre 25
Leyes de la termodinámica 25
Entropía y entalpía 26
Flujo de la energía en la biosfera 26
Relación entre energía libre y constante de equilibrio de una reacción 27
El ATP y la transferencia de energía química 28

1.2 Ciclos de la materia en la biosfera 30
Ciclo del carbono 30
Ciclo del oxígeno 30
Ciclo del nitrógeno 30

1.3 Metabolismo intermediario 32
Función del ATP y del NAD en el metabolismo 33
La división del trabajo en el metabolismo 34
El hígado 34
El tejido adiposo 36
El tejido muscular 37
El cerebro 38
La sangre 38

1.4 Enzimas 39
Clasificación sistemática de las enzimas 39
Cinética enzimática 40
Efecto de la concentración del sustrato en la velocidad de la reacción enzimática 40
Efecto del pH y de la temperatura sobre la velocidad de la reacción enzimática 42
Medida de la actividad enzimática 42
Inhibidores de la acción enzimática 43
Inhibición reversible 43
Inhibición irreversible 44
Regulación enzimática 44
Enzimas alostéricas 45
Enzimas reguladas por modificación covalente 45
Isoenzimas 45

1.5 Cofactores enzimáticos 46
Nucleótidos piridínicos 46

Nucleótidos flavínicos 47
Tiamina-pirofosfato (TPP) 47
Coenzima A (CoA) 48
Piridoxal-fosfato 48
Coenzima B_{12} (cobamamida) 49
Biotina 50
Ácido fólico (Folacina) 51

1.6 Bibliografía 53

Capítulo 2 - Alteraciones del equilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico

2.1 El agua en los organismos animales 55
Propiedades fisicoquímicas del agua 55
Los productos de ionización del agua 56

2.2 Ácidos y bases 57

2.3 Soluciones *buffer* 57

2.4 Sistemas *buffer* en los organismos animales 59
El sistema *buffer* fosfato 59
El sistema *buffer* bicarbonato 60
Control respiratorio del buffer *bicarbonato* 61
Control renal del buffer *bicarbonato* 62
Otros órganos que interfieren en el equilibrio ácido-básico 63
Hígado 63
Estómago 63

2.5 Equilibrio hídrico 64
El sistema renina-angiotensina 65
Vasopresina (hormona antidiurética, ADH) 66

2.6 Equilibrio electrolítico 66
Diferencia aniónica o *anion gap* 67
Exceso de base (EB) 67
Osmolaridad 67

2.7 Alteraciones de equilibrio hídrico 68
Deshidratación 68
Etiología 68
Implicaciones metabólicas de la deshidratación 68
Señales clínicas de la deshidratación 69
Tratamiento de la deshidratación 69
Sobrehidratación 70
Poliuria y polidipsia 70
Etiología 71

Exámenes laboratoriales en casos de poliuria ... 73
Tratamiento de la polidipsia ... 74
Diabetes insípida ... 74
Etiología de la diabetes insípida ... 75
Diagnóstico de la diabetes insípida ... 75
Tratamiento de la diabetes insípida ... 76

2.8 Alteraciones del equilibrio electrolítico ... 76
Disturbios del sodio ... 77
Hipernatremia ... 77
Hiponatremia ... 77
Disturbios del potasio ... 79
Hipercalemia ... 79
Hipocalemia ... 79
Disturbios del cloro ... 80
Hipercloremia ... 80
Hipocloremia ... 80

2.9 Alteraciones del equilibrio ácido-básico ... 80
Acidosis metabólica ... 81
Respuesta compensatoria en la acidosis metabólica ... 82
Tratamiento de la acidosis metabólica ... 82
Acidosis respiratoria ... 82
Respuesta compensatoria en la acidosis respiratoria ... 83
Tratamiento de la acidosis respiratoria ... 83
Alcalosis metabólica ... 83
Respuesta compensatoria en la alcalosis metabólica ... 84
Tratamiento de la alcalosis metabólica ... 84
Alcalosis respiratoria ... 84
Respuesta compensatoria en la alcalosis respiratoria ... 84
Tratamiento de la alcalosis respiratoria ... 84
Acidosis láctica ruminal ... 84
Señales clínicas de la acidosis láctica ruminal ... 86
Diagnóstico de la acidosis láctica ruminal ... 87
Tratamiento de la acidosis láctica ruminal ... 87
Prevención de la acidosis láctica ruminal ... 88
Alcalosis ruminal ... 89
Etiología de la alcalosis ruminal ... 89
Epidemiología de la alcalosis ruminal ... 90
Patogenia de la alcalosis ruminal ... 90
Señales clínicas de la alcalosis ruminal ... 90
Diagnóstico de la alcalosis ruminal ... 90
Tratamiento de la alcalosis ruminal ... 91
Prevención de la alcalosis ruminal ... 91
Abordaje laboratorial de los desequilibrios ácido-básicos ... 91
Gasometría ... 92

2.10 Bibliografía ... 94

Capítulo 3 - Bioquímica clínica de proteínas y compuestos nitrogenados

3.1 Características de aminoácidos y proteínas 97
Los aminoácidos como unidades básicas de las proteínas 97
Clasificación de los aminoácidos 97
Propiedades químicas de los aminoácidos 98
Aminogramas 99
Péptidos y proteínas 100
Clasificación de las proteínas 100
Niveles de organización estructural de las proteínas 101
Solubilidad de las proteínas 102
Funciones de las proteínas 103

3.2 Digestión y absorción de las proteínas 103
Animales monogástricos 103
Animales rumiantes 104

3.3 Catabolismo de las proteínas 105
Catabolismo de los aminoácidos 105
Transaminación 105
Desaminación oxidativa 106
Ciclo de la urea 106
Vías catabólicas de los esqueletos carbonados de los aminoácidos 108
Vía acetil-CoA 109
Vía α-cetoglutarato 109
Vía succinil-CoA 109
Vía oxalacetato (OAA) 109

3.4 Bioquímica del grupo hemo 110
Biosíntesis del grupo hemo 110
Degradación del grupo hemo 110
Metabolismo de la bilirrubina 112
Variaciones de bilirrubinemia entre las especies 112
Pigmentos biliares en la orina 115
Bioquímica de la respiración 115
Efecto del CO_2 sobre la afinidad Hb-O_2 116

3.5 Trastornos relacionados con compuestos nitrogenados 117
Porfirias 117
Etiología de las porfirias 118
Porfiria eritropoyética congénita 118
Protoporfiria eritropoyética 119
Porfirias hepáticas 119
Porfiria hepática por intoxicación con plomo 119
Ictericias 120
Ictericia hemolítica (prehepática) 120
Ictericia hepática 121
Ictericia obstructiva (extrahepática) 121

Intoxicaciones que comprometen la función del grupo hemo 121
Intoxicación por monóxido de carbono 121
Intoxicación por nitritos 123
Intoxicación por cianuro 124
Intoxicación por urea (amonio) 125
Etiología 125
Señales clínicas de la intoxicación por urea 126
Diagnóstico de la intoxicación por urea 126
Tratamiento de la intoxicación por urea 126
Suplementando con urea 127

3.6 Proteínas séricas: cuantificación e interpretación de sus alteraciones 127
Proteínas totales 127
Refractometría 127
Colorimetría 128
Valores de referencia y variaciones fisiológicas 128
Hiperproteinemias 128
Deshidratación 128
Inflamación 129
Hipoproteinemia por disminución de albúmina 129
Problemas de síntesis o absorción de albúmina 129
Pérdidas excesivas de albúmina 129
Dilución de proteínas séricas 130
Hipoproteinemia por disminución de globulinas 130
Electroforesis de proteínas 130
Valores de referencia del proteinograma 131
Interpretación clínica del proteinograma 132
Proteínas de fase aguda 132
Haptoglobina 133
Amiloide sérica A 133
Proteína C reactiva 134
Ceruloplasmina 134
Glucoproteína α1-ácida 134
Fibrinógeno 135
Albúmina 135
Transferrina 135

3.7 Bibliografía 136

Capítulo 4 - Bioquímica clínica de lípidos

4.1 Digestión y absorción de los lípidos 137
Animales monogástricos 138
Animales rumiantes 139

4.2 Ácidos grasos: la principal característica de los lípidos compuestos 139
Ácidos grasos esenciales 139

4.3 Los triglicéridos: mayor fuente de energía 140
Rancidez de los lípidos 141

4.4 Lipoproteínas: transporte de los lípidos en la sangre 142

4.5 Lipólisis: movilización de triglicéridos 143
Obtención de energía a partir de los ácidos grasos: β-oxidación 143
Balance energético de la β-oxidación 144
El tejido adiposo marrón 146
Diferencias en la oxidación de los ácidos grasos insaturados 146
La oxidación de los ácidos grasos de número impar de carbonos genera propionato 147
Cuerpos cetónicos 147
Formación de los cuerpos cetónicos 147
Utilización de los cuerpos cetónicos en los tejidos 148

4.6 La biosíntesis de los ácidos grasos 148
Acción del complejo sintetasa de ácido graso (SAG) 150
Regulación de la síntesis de ácidos grasos 151
Elongación del palmitato 152
Introducción de insaturaciones en los ácidos grasos 152

4.7 Lipogénesis: la biosíntesis de triglicéridos 153

4.8 Importancia del colesterol 154
La síntesis del colesterol 155
El colesterol como precursor de las hormonas esteroides 156

4.9 Las prostaglandinas 156
Biosíntesis de las prostaglandinas 157

4.10 Trastornos del metabolismo de los lípidos 157
Cetosis de las vacas lecheras 159
Etiología 159
Pérdidas económicas en la cetosis 161
Disturbios metabólicos en la cetosis 161
Señales clínicas de la cetosis bovina 163
Diagnóstico de la cetosis 164
Tratamiento de la cetosis 164
Profilaxia de la cetosis 164
Cetosis de los pequeños rumiantes 166
Etiología 166
Señales clínicas de la cetosis de los pequeños rumiantes 166
Tratamiento de la cetosis de los pequeños rumiantes 166
Cetosis en otras especies 167
Lipidosis hepática 167
Etiología de la lipidosis hepática 167
Señales clínicas de la lipidosis hepática 168
Tratamiento de la lipidosis hepática 168
Anormalidades de las lipoproteínas plasmáticas 168
Deficiencia de lipoproteínas 168
Exceso de lipoproteínas 169
Hiperlipidemias en animales 169
Obesidad 169
Obesidad y diabetes mellitus 170
Tratamiento de la obesidad 171
Aporte calórico 171
Aporte proteico 171

4.11 Bibliografía 173

Capítulo 5 - Bioquímica clínica de glúcidos

5.1 Estructura y clasificación de los glúcidos 175

5.2 Digestión y absorción de los glúcidos 176
Animales monogástricos 176
Animales rumiantes 177

5.3 Metabolismo de los glúcidos 180
Almacenamiento de la glucosa: el glucógeno 180
Glucogenólisis: el glucógeno como fuente de glucosa 180
Glucogénesis: la síntesis de glucógeno 181
Regulación de la glucogénesis y de la glucogenólisis 182
Metabolismo de la glucosa 183
Rutas oxidativas de la glucosa: glucólisis 183
Fase preparatoria de la glucólisis 183
Fase oxidativa de la glucólisis 184
Glucólisis anaeróbica 184
Destino del piruvato 185
Ruta alternativa de oxidación de la glucosa: vía de las pentosas fosfato 186
Ruta alternativa de oxidación de la glucosa: ruta del glucuronato 186
La oxidación total del acetil-CoA: ciclo de Krebs 186
Regulación del ciclo de Krebs 188
Carácter anfibólico del ciclo de Krebs 190
Reposición de los intermediarios del ciclo de Krebs 190
Balance energético del ciclo de Krebs 190
Cadena respiratoria: la síntesis de ATP 191
Secuencia de la cadena respiratoria 193
Fosforilación oxidativa 194
Desacopladores e inhibidores de la fosforilación oxidativa 194
Regulación de la fosforilación oxidativa 195
Gluconeogénesis: biosíntesis de nueva glucosa 195
Gluconeogénesis a partir de piruvato 195
Conversión de piruvato a PEP 195
Conversión de fructosa 1,6-difosfato en fructosa-6-fosfato 195
Conversión de glucosa-6-fosfato en glucosa libre 196
Gluconeogénesis a partir de propionato 196
Gluconeogénesis a partir de glicerol 196
Gluconeogénesis a partir de lactato 196
Gluconeogénesis a partir de aminoácidos 197
Regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis 198
Biosíntesis de lactosa 198
Fructosa como fuente de energía 200

5.4 El metabolismo de los glúcidos y las hormonas del páncreas 200
Insulina 201
Funciones de la insulina 201
Mecanismo de acción de la insulina 202
Control de la secreción de insulina 202
Glucagón 202
Somatostatina 203

5.5 Trastornos del metabolismo de los glúcidos 203
Hipoglucemia 204
Etiología 204
Implicaciones metabólicas de la hipoglucemia 205
Signos clínicos de la hipoglucemia 205
Abordaje del paciente hipoglucémico 205
Tratamiento de la hipoglucemia 206
Hipoglucemia de los lechones 207
Insulinoma 207
Presentación de insulinoma 207
Diagnóstico de insulinoma 208
Tratamiento de insulinoma 208
Tratamiento quirúrgico de insulinoma 210
Síndrome de la vaca caída 210
Etiología 210
Signos clínicos del síndrome de la vaca caída 211
Tratamiento del síndrome de la vaca caída 211
Laminitis 211
Etiología de la laminitis 212
Signos clínicos de la laminitis 213
Tratamiento de la laminitis 213
Control de la laminitis 214
Desplazamiento de abomaso 215
Etiología del desplazamiento de abomaso 215
Factores predisponentes del desplazamiento de abomaso 215
Signos clínicos en el desplazamiento de abomaso 216
Patología clínica en el desplazamiento de abomaso 216
Diagnóstico del desplazamiento de abomaso 217
Tratamiento del desplazamiento de abomaso 217
Control del desplazamiento de abomaso 217
Diabetes mellitus 218
Tipos de diabetes mellitus 220
Etiopatogenia de la diabetes mellitus 220
Implicaciones metabólicas de la diabetes mellitus 223
Signos clínicos de la diabetes mellitus 224
Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus canina 226
Catarata 226
Uveítis inducida por la catarata 226
Retinopatía diabética 227
Neuropatía diabética 227
Nefropatía diabética 227
Miocardiopatía diabética 228
Hipertensión sistémica / Aterosclerosis 228
Diagnóstico de la diabetes mellitus 228
Prueba de tolerancia a la glucosa 230
Tratamiento de la diabetes mellitus 231
Tipos de insulina 232
Monitoreo de la terapia insulínica 233
Terapia dietética 235
Ejercicios en la terapia de la diabetes mellitus 237

Drogas hipoglucemiantes 237
Complicaciones de la terapia insulínica 238
Hipoglucemia 238
Persistencia o recurrencia de los signos clínicos 239
Efecto Somogyi 239
Anticuerpos antiinsulina 239
Resistencia insulínica 240
Pronóstico de la diabetes mellitus 240
Trastornos congénitos en enzimas del metabolismo de los glúcidos 240
Disturbios del almacenamiento del glucógeno 240
Anemia hemolítica congénita 241
Síndrome de estrés en porcinos 242
Fructosuria e intolerancia a la fructosa 242
Galactosemia 243

5.6 Bibliografía 244

Capítulo 6 - Bioquímica clínica de minerales

6.1 Clasificación y funciones de los minerales 249

6.2 Macroelementos 250
Calcio 250
Funciones del calcio 251
Control hormonal de la homeostasis del calcio 252
Hormona de la paratiroides 252
Calcitonina 254
Vitamina D 255
Trastornos en el metabolismo del calcio 257
Trastornos en la función de la paratiroides 257
Hiperparatiroidismo primario 257
Hiperparatiroidismo secundario renal 258
Hiperparatiroidismo secundario nutricional 259
Hipoparatiroidismo 259
Hipocalcemia puerperal (fiebre de leche) 259
Etiología de la hipocalcemia puerperal 260
Factores de riesgo de la hipocalcemia puerperal 260
Signos clínicos de la hipocalcemia puerperal 261
Diagnóstico de la hipocalcemia puerperal 262
Tratamiento de la hipocalcemia puerperal 262
Hipocalcemia puerperal subclínica 263
Eclampsia puerperal 263
Etiología 263
Signos clínicos de la eclampsia puerperal 263
Diagnóstico de la eclampsia puerperal 264
Tratamiento de la eclampsia puerperal 265
Osteoporosis 265
Raquitismo y osteomalacia 266
Hipercalcificación 266

Fósforo 267
Metabolismo 267
Funciones del fósforo 267
Deficiencia de fósforo 267
Signos clínicos de la deficiencia de fósforo 269
Tratamiento de la deficiencia de fósforo 269
Hemoglobinuria puerperal 270
Potasio 270
Metabolismo 270
Deficiencia de potasio 271
Toxicidad del potasio 271
Azufre 271
Metabolismo 271
Deficiencia de azufre 271
Toxicidad del azufre 272
Sodio 272
Metabolismo 272
Deficiencia de sodio 272
Toxicidad del sodio 272
Cloro 272
Metabolismo 272
Deficiencia de cloro 273
Toxicidad del cloro 273
Magnesio 273
Metabolismo 273
Hipomagnesemia 273
Etiología de la hipomagnesemia 274
Signos clínicos de la hipomagnesemia 274
Tratamiento de la hipomagnesemia 274

6.3 Oligoelementos 275
Hierro 275
Metabolismo 275
Deficiencia de hierro 275
Toxicidad del hierro 276
Zinc 276
Metabolismo 276
Deficiencia de zinc 277
Toxicidad del zinc 277
Cobre 277
Metabolismo 277
Deficiencia de cobre 278
Toxicidad del cobre 278
Yodo 279
Metabolismo 279
Deficiencia de yodo 280
Exceso de yodo 280
Manganeso 281
Metabolismo 281
Deficiencia de manganeso 281
Toxicidad del manganeso 281

Cobalto 281
Metabolismo 281
Deficiencia de cobalto 282
Selenio 282
Metabolismo 282
Deficiencia de selenio 282
Toxicidad del selenio 283
Molibdeno 283
Metabolismo 283
Deficiencia de molibdeno 283
Toxicidad del molibdeno 284
Otras toxicidades minerales 284
Toxicidad del plomo 284
Toxicidad del arsénico 284

6.4 Bibliografía 285

Capítulo 7 - Bioquímica hormonal

7.1 Clasificación química de las hormonas 289

7.2 Características de la actividad hormonal 291

7.3 Mecanismos de la acción hormonal 295
cAMP como segundo mensajero 296
cGMP como segundo mensajero 298
Calcio como segundo mensajero 298
Derivados del fosfatidil-inositol como segundos mensajeros 299
Otros segundos mensajeros 299
Proteína-quinasas como intermediarias de la acción hormonal 300
Acción hormonal mediada por receptores nucleares 300

7.4 Métodos de medición de la concentración de las hormonas 302

7.5 Trastornos endocrinos 303

7.6 Hormonas hipotálamo-hipofisarias 305
Hipotálamo 305
GnRH 305
TRH 308
CRH 308
Somatocrinina 308
Somatostatina 308
PRF / PIF 308
MRF / MIF 309
Neurotransmisores 309
Hipófisis 309
Adenohipófisis 310
Hormonas derivadas de POMC 310

Hormonas glucoproteicas 311
Gonadotropinas hipofisarias (LH / FSH) 311
Tirotropina 311
Hormona del crecimiento 312
Prolactina 313
Neurohipófisis 315
Vasopresina 315
Oxitocina 316

7.7 Trastornos del eje hipotálamo-hipofisario 316
Trastornos de las células corticotrópicas 316
Trastornos de la hormona del crecimiento 316
Enanismo pituitario 316
Hipersomatotropismo 316
Trastornos de la vasopresina 321

7.8 Hormonas del córtex adrenal 321
Biosíntesis de los esteroides adrenales 322
Metabolismo de los esteroides adrenales 324
Regulación de la síntesis de los glucocorticoides 326
Regulación de la síntesis de los mineralocorticoides 327
Efectos metabólicos de los glucocorticoides 327
Efectos metabólicos de los mineralocorticoides 329
Corticoides sintéticos 330

7.9 Trastornos del córtex adrenal 330
Hipoadrenocorticismo (síndrome de Addison) 330
Etiopatogenia del hipoadrenocorticismo 331
Signos clínicos del hipoadrenocorticismo 331
Diagnóstico del hipoadrenocorticismo 332
Tratamiento del hipoadrenocorticismo 334
Hiperadrenocorticismo (síndrome de Cushing) 335
Etiopatogenia del hiperadrenocorticismo 336
Signos clínicos del hiperadrenocorticismo 337
Diagnóstico del hiperadrenocorticismo 339
Pruebas endocrinas en el hiperadrenocorticismo 341
Tratamiento del hiperadrenocorticismo 343
Hiperaldosteronismo 347
Signos clínicos del hiperaldosteronismo 347
Tratamiento del hiperaldosteronismo 348

7.10 Hormonas de la médula adrenal 348
Biosíntesis de las catecolaminas 348
Acciones de las catecolaminas 351
Las catecolaminas y la integración de las hormonas del metabolismo 352

7.11 Trastornos de la médula adrenal 353
Feocromocitomas 353
Signos clínicos del feocromocitoma 353
Diagnóstico del feocromocitoma 354
Tratamiento del feocromocitoma 354

7.12 La glándula adrenal y el estrés 354

7.13 Hormonas de la glándula tiroides 356
Estructura de la tiroides 356
Biosíntesis de las hormonas tiroidianas 356
Transporte y metabolización de las hormonas tiroidianas 359
Funciones de las hormonas tiroidianas 362
Mecanismo de acción de las hormonas tiroidianas 363
Regulación de la función tiroidiana 364

7.14 Trastornos de la función tiroidiana 365
Hipotiroidismo 365
Etiopatogenia del hipotiroidismo 365
Signos clínicos del hipotiroidismo 367
Diagnóstico del hipotiroidismo 368
Evaluación específica de la glándula tiroides 369
Tratamiento del hipotiroidismo 370
Hipertiroidismo 371
Etiología del hipertiroidismo 372
Signos clínicos del hipertiroidismo 372
Diagnóstico del hipertiroidismo 373
Tratamiento del hipertiroidismo 374

7.15 Trastornos de hormonas del tejido adiposo 376

7.16 Disturbios relacionados con las hormonas sexuales 379
Tumores testiculares 379
Síndrome de androgenización 380
Síndrome de feminización 380
Disturbios ováricos 381
Alopecia X 381
Alopecias secundarias a castración 382

7.17 Bibliografía 383

Capítulo 8 - Bioquímica clínica de las vitaminas

8.1 Clasificación de las vitaminas 385

8.2 Vitaminas liposolubles 385
Vitamina A (retinol) 385
Funciones de la vitamina A 387
Deficiencia de vitamina A 388
Toxicidad de la vitamina A 389
Vitamina D (1,25-dihidroxi-colecalciferol) 390
Funciones de la vitamina D 391
Deficiencia de vitamina D 391
Toxicidad de la vitamina D 392
Vitamina E (tocoferol) 392

Funciones de la vitamina E 394
Deficiencia de vitamina E 394
Toxicidad de la vitamina E 395
Oxidación y antioxidantes 395
Vitamina K (menaquinona) 397
Funciones de la vitamina K 398
Deficiencia de vitamina K 400
Toxicidad de la vitamina K 401

8.3 Vitaminas hidrosolubles 401
Tiamina (vitamina B_1) 401
Funciones de la tiamina 402
Deficiencia de tiamina 402
Toxicidad de la tiamina 403
Riboflavina (vitamina B_2) 403
Funciones de la riboflavina 403
Deficiencia de riboflavina 403
Toxicidad de la riboflavina 404
Niacina (vitamina B_3) 404
Funciones de la niacina 405
Deficiencia de niacina 405
Toxicidad de la niacina 406
Piridoxina (vitamina B_6) 406
Funciones de la piridoxina 406
Deficiencia de piridoxina 406
Toxicidad de la piridoxina 407
Ácido pantoténico 407
Funciones del ácido pantoténico 407
Deficiencia de ácido pantoténico 407
Toxicidad del ácido pantoténico 408
Biotina 408
Funciones de la biotina 408
Deficiencia de biotina 408
Toxicidad de la biotina 409
Ácido fólico 409
Funciones del ácido fólico 410
Deficiencia de ácido fólico 410
Toxicidad del ácido fólico 410
Cianocobalamina 410
Funciones de la cianocobalamina 412
Deficiencia de cianocobalamina 412
Toxicidad de la cianocobalamina 413
Colina 413
Funciones de la colina 413
Deficiencia de colina 414
Toxicidad de la colina 414
Vitamina C (ácido ascórbico) 415
Funciones de la vitamina C 415
Deficiencia de vitamina C 416
Toxicidad de la vitamina C 416

Carnitina 416
Funciones de la carnitina 416
Deficiencia de carnitina 417
Toxicidad de la carnitina 417

8.4 Bibliografía 423

Capítulo 9 - Perfil bioquímico sanguíneo

9.1 Componentes del perfil metabólico 425

9.2 Colecta y manejo de muestras sanguíneas 425
Colecta de muestras 427
Anticoagulantes 427
Determinaciones de bioquímica clínica 428
Determinaciones de hematología 428
Determinación del estado ácido-básico 430

9.3 Principales metabolitos sanguíneos y su interpretación 430
Ácidos grasos libres 430
Ácido úrico 430
Ácidos biliares 431
Albúmina 431
Amonio 432
Bilirrubina 432
Calcio 433
Cloro 434
Colesterol 434
Creatinina 434
Cuerpos cetónicos 436
Dióxido de carbono 436
Hierro 436
Fósforo 436
Fructosamina 437
Globulinas 437
Glucosa 438
Hemoglobina 439
Hemoglobina glucosilada 440
Lactato 440
Lípidos totales 440
Magnesio 440
Potasio 441
Proteínas totales 441
Sodio 442
Triglicéridos 442
Urea 442

9.4 Perfil enzimático 443
Aldolasa 445

Alanina aminotransferasa 445
Amilasa 445
Arginasa 446
Aspartato aminotransferasa 446
Colinesterasa 447
Creatina quinasa 447
Fosfatase ácida 448
Fosfatase alcalina 448
Gama-glutamil transferasa 448
Glutamato desidrogenase 449
Glutation peroxidasa 449
Lactato deshidrogenasa 449
Lipasa 450
Sorbitol deshidrogenasa 450
Tripsina 450
Otras enzimas 450

9.5 Perfiles bioquímicos específicos 450
Perfil bioquímico en el ejercicio 454
Perfil bioquímico en el crecimiento 454
Perfil bioquímico en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades 455
Perfil bioquímico en la evaluación de la fertilidad 456
Perfil bioquímico en el diagnóstico de problemas nutricionales 457

9.6 Análisis para monitorear la función renal 457
Urea y creatinina 457
Estimación de la tasa de filtración glomerular con pruebas de depuración renal 459
Calcio y fósforo 461
Potasio 461
SDMA (dimetilarginina simétrica) 461
Hematocrito 461
El urianálisis como herramienta para evaluar la función renal 461
Características organolépticas 462
Características físico-químicas 462
Densidad específica 462
pH 463
Proteinúria 463
Glucosa 464
Cuerpos cetónicos 464
Sangre, hemoglobina, mioglobina 465
Leucocitos 465
Bilirrubina 465
Urobilinógeno 465
Enzimas en la orina 465
Examen de sedimento 465

9.7 Bibliografía 467

Capítulo 1
Conceptos básicos sobre metabolismo

1.1 Bioenergética

La parte de la física que estudia los cambios de energía entre los sistemas materiales es conocida como termodinámica. El mismo estudio, cuando es realizado en los seres vivos, recibe el nombre de bioenergética. Las leyes físicas de la termodinámica son aplicadas de igual forma a los seres vivos y a los sistemas materiales. Los seres vivos necesitan producir energía para poder mantener el equilibrio de su estructura, para su locomoción, para la reproducción, para mantener las funciones normales en los diferentes procesos, tales como crecimiento, gestación, lactación, oviposición y ciclicidad reproductiva. Esa energía es obtenida a partir de procesos químicos que ocurren en el interior de las células.

Energía libre

La energía capaz de producir un trabajo es denominada energía libre. Existen varias formas de energía, las cuales pueden ser interconvertidas entre sí: energía potencial, cinética, térmica, eléctrica, radiante, química, nuclear, calórica, hidráulica y eólica. En el proceso de interconversión de una forma de energía a otra siempre hay pérdida de energía útil. En las máquinas es aprovechable hasta el 25 % de la energía en una interconversión, mientras que en los procesos biológicos la eficiencia de conservación de la energía en una interconversión es del orden de 38 %. En los animales la energía es obtenida a partir de la oxidación de compuestos orgánicos. Según Lavoisier, uno de los pioneros en el estudio de la bioenergética, "[...] los animales que respiran son verdaderos cuerpos combustibles que se queman y se consumen a sí mismos [...]"; se podría decir que "[...] la llama de la vida se enciende por primera vez al momento de nacer y solamente se extingue con la muerte [...]" (Nelson & Cox, 2000).

Leyes de la termodinámica

En termodinámica un sistema, caracterizado por un conjunto finito de variables que lo identifican, desde el punto de vista físico se define como una parte limitada del universo. Un sistema puede ser un organismo, una célula, un organelo citoplasmático, o los componentes de una reacción química. El sistema es 'abierto' cuando está en contacto con un medio con el que tiene intercambio de materia y energía, como es el caso de los sistemas vivos. Estos nunca están en equilibrio con su medio, pues el nivel de organización interna de los sistemas es mayor que el del medio.

La primera ley de la termodinámica es el principio de conservación de la energía, la cual establece que, en cualquier cambio físico o químico, la energía del sistema más la energía del medio, o sea, la energía del universo, permanece igual. En otras palabras, la energía se puede transformar de una forma a otra, pero no puede ser creada ni destruida. La segunda ley de la termodinámica dice que todos los cambios físicos o químicos tienden a realizarse, de forma espontánea, en aquella dirección que lleve la energía del universo a degradarse hacia una forma más dispersa. Por tanto, las reacciones fisicoquímicas que ocurren en la naturaleza tienden al aumento de la entropía. En todos los procesos la entropía del universo (sistema + medio) tiende a aumentar hasta alcanzar el equilibrio, esto es, hasta que la energía del sistema sea igual a la energía del medio. De cierto modo, la entropía puede ser interpretada como tendencia al desorden o a la aleatoriedad de los procesos. La segunda ley de la termodinámica establece, por consiguiente, que el direccionamiento de los procesos fisicoquímicos en el universo está determinado por la tendencia a alcanzar un valor máximo de entropía.

Entropía y entalpía

La entropía es una forma de energía no utilizable, o sea, una energía 'inútil'. Los cambios de entropía en un sistema o en una reacción química pueden ser medidos a partir de la variación de energía libre, definida, según la ecuación de Gibbs, así:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Dónde:
ΔG = variación de la energía libre del sistema (en J/mol)
ΔH = variación de la entalpía del sistema (en J/mol)
T = temperatura en la cual se realiza el proceso (en ^{o}K)
ΔS = variación de la entropía del sistema (en J/^{o}K)

Por tanto, la variación de energía libre de un sistema está determinada por la variación de la entalpía, por la temperatura del medio y por la variación de la entropía.

La entalpía se define como el contenido calórico de un sistema. En sistemas químicos, se refiere al número y al tipo de enlaces entre los átomos de una molécula, de forma que, mientras más enlaces tenga la molécula y mayor sea la energía de esos enlaces, mayor es la entalpía del sistema. Cuando una reacción química es termodinámicamente favorable, es decir, cuando la reacción puede ocurrir espontáneamente, ella se realiza hasta alcanzar su punto de equilibrio, aumentando la entropía del sistema. Eso significa que toda reacción con tendencia a ocurrir de forma espontánea tendrá una variación de entropía (ΔS) con valor positivo, con lo cual la entropía del sistema aumenta al ocurrir la reacción. Una vez que, según la ecuación de Gibbs, concomitante con el aumento de la entropía hay disminución de la energía libre del sistema, ΔG (variación de energía libre) tendrá un valor negativo. Por otra parte, en una reacción favorable el sistema disminuye su energía interna (entalpía), pues pierde organización interna. De esa forma, aumenta el 'desorden' del sistema, esto es, aumenta la entropía. En compensación, la reacción libera energía que puede ser aprovechada en algún trabajo (energía útil). Si la energía libre no es utilizada para una actividad, puede ser disipada en forma de calor.

Como ejemplo pueden ser citadas las reacciones de oxidación de la glucosa, que constituyen la forma como los animales superiores toman energía del medio. En el proceso, una molécula de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) y seis de O_2 son convertidas en seis moléculas de CO_2 y seis de H_2O, con producción de energía libre. Esas reacciones son termodinámicamente favorables, pues la energía contenida en la glucosa (entalpía) es mayor que la energía del CO_2 y del agua. Las reacciones ocurren con mayor velocidad en las células por acción de las enzimas, que son catalizadores biológicos. La energía generada en el proceso de oxidación es empleada para sintetizar biomoléculas complejas y para realizar otros trabajos biológicos. O sea, la glucosa aumenta su entropía, pues siete moléculas fueron transformadas en doce, pero el organismo gana organización estructural al sintetizar biomoléculas (disminuye su entropía).

De acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, la tendencia al aumento de la entropía en el universo es lo que direcciona los procesos fisicoquímicos. Por eso los organismos vivos (sistemas) pueden mantener su estructura organizada, pues a partir de esas reacciones es que obtienen la energía necesaria para los procesos requeridos en la manutención de su organización, aunque esto ocurra a expensas del aumento del desorden de medio. Cuando los productos de una reacción son menos complejos o más 'desordenados' que los sustratos, la reacción sufre aumento de entropía, esto es, libera energía. En ese caso, se trata de una reacción exergónica, la cual siempre tendrá un ΔG negativo, pues el sistema libera energía. Una vez que, de acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, la tendencia natural de los procesos es la de aumentar la entropía, las reacciones termodinámicamente favorables son aquellas que tienen ΔG negativo. Por otro lado, las reacciones con ΔG positivo deben ganar energía para que puedan ocurrir, o sea, requieren disminuir su entropía, no siendo termodinámicamente favorables, a menos que ocurra entrada de energía en el sistema. Estas son las llamadas reacciones endergónicas.

Flujo de energía en la biosfera

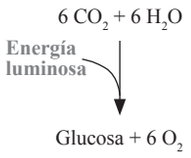
El flujo de energía biológica tiene tres fases:

En una primera fase, la energía es liberada a partir de la fusión nuclear que ocurre en el Sol, el cual está compuesto de hidrógeno:

$$4\ H \rightarrow He + 2\ e^{0}\ (\text{positrón}) + \text{energía radiante}$$

Esa reacción es posible debido a las elevadas temperaturas presentes en el interior del Sol (millones de grados centígrados). La energía liberada en el proceso de fusión termonuclear sale en forma de fotones (cuanta de energía luminosa).

En la segunda fase la energía luminosa es absorbida por las células fotosintéticas, presentes en los organismos autotróficos, representados por 90% de los microorganismos del mar y por las hojas verdes de las plantas:



Esa reacción tiene una variación de energía libre altamente positiva ($\Delta G^{o\prime}$= +2.870 kJ/mol), o sea, debe absorber gran cantidad de energía para que pueda ocurrir.

En la tercera y última fase ocurre la utilización de las moléculas producidas en las células fotosintéticas por parte de los organismos heterotróficos. Carbohidratos, grasas y proteínas son oxidados para producir energía química (en la forma de ATP), necesaria para los trabajos biológicos. Estas actividades que demandan energía incluyen: 1) trabajos químicos, tales como la biosíntesis de moléculas complejas como DNA, RNA y proteínas; 2) trabajos osmóticos, como el transporte activo a través de membranas y la actividad eléctrica en la conducción de impulsos nerviosos. El trabajo de transporte intermembranal es uno de los que más consume energía, siendo la bomba de Na-K ATPasa en todas las células del organismo responsable por mantener constante la concentración de esos iones (Na^+ está más concentrado en el exterior de las células, mientras que K^+ está más concentrado en el interior); 3) trabajos mecánicos, como la contracción muscular y el movimiento de cilios y flagelos. Los trabajos biológicos citados son procesos irreversibles, una vez que provocan aumento de la entropía, causando disipación de la energía para el medio.

Relación entre energía libre y constante de equilibrio de una reacción

En toda reacción química existe una constante de equilibrio, indicadora de la velocidad de la reacción. Por ejemplo, en la reacción: A → B la constante de equilibrio es:

$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

De acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, para que una reacción espontánea sea energéticamente posible debe tener una $\Delta G^{0\prime}$ negativa, o sea, debe ocurrir disminución de la energía libre del sistema. La cantidad de energía liberada en el proceso puede entonces realizar un trabajo cuando la reacción exergónica está acoplada a otra reacción que requiere energía (reacción endergónica). Si la constante de equilibrio de la reacción es mayor que 1, la reacción tiende a realizarse espontáneamente en la dirección A → B, teniendo $\Delta G^{0\prime}$ negativo (reacción exergónica). Si, por el contrario, la constante es menor que 1, la reacción tenderá a realizarse en el sentido B → A, y el valor de $\Delta G^{0\prime}$ deberá ser positivo (reacción endergónica).

La relación entre el valor de la constante de equilibrio y la variación de energía libre de la reacción está definida por una relación matemática expresada en la siguiente ecuación:

$$\Delta G^{0\prime} = -RT \ln K_{eq}$$

Dónde:
$\Delta G^{0\prime}$ = variación de energía libre en J/mol bajo condiciones estándar (pH 7,0; temperatura 25ºC; presión 1 atm; concentraciones de sustrato y de producto 1 M)
R = constante universal de los gases (8,3 J/mol/ºK)
T = temperatura estándar (298ºK = 25ºC)
K_{eq} = constante de equilibrio de la reacción

En la **Tabla 1.1** se presenta la relación numérica entre la constante de equilibrio de una reacción y la variación de energía libre estándar. La señal de $\Delta G^{0\prime}$ indica la dirección del proceso. Una reacción que proceda para la derecha (A → B) tendrá señal negativa, indicando disminución de la energía libre del sistema, siendo termodinámicamente favorable. Una reacción que proceda para la izquierda (B → A) tendrá señal positiva, indicando que el sistema debe ganar energía para que la reacción ocurra. Las condiciones existentes en la célula son diferentes de las condiciones estándar, pero por convención, todas las reacciones son calculadas como variación de energía libre estándar ($\Delta G^{0\prime}$), sabiendo que la variación de energía libre real (ΔG) es generalmente mayor que la ΔG bajo condiciones estándar.

Tabla 1.1. Relación entre constante de equilibrio (K_{eq}) y variación de energía libre ($\Delta G^{0\prime}$)

K_{eq}	$\Delta G^{0\prime}$
10^{-3}	+17,1
10^{-2}	+11,4
10^{-1}	+5,7
1	0
10	−5,7
10^{2}	−11,4
10^{3}	−17,1
10^{4}	−22,8
10^{5}	−28,5
10^{6}	−34,2

La variación de energía libre real (ΔG), o sea, la que ocurre bajo las condiciones reales de la célula, está determinada por la siguiente ecuación:

$$\Delta G = \Delta G^{0\prime} + RT \ln K'_{eq}$$

Para visualizar la diferencia entre la variación de energía libre estándar y la real, considérese el ejemplo de la reacción de hidrólisis del ATP en el eritrocito:

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi$$

Considerando un valor de −30,5 kJ/mol para $\Delta G^{0\prime}$ (energía libre estándar) y las siguientes concentraciones intracelulares de sustratos y productos:

[ATP] = 2,25 mM (0,00225 M)
[ADP] = 0,25 mM (0,00025 M)
[Pi] = 1,65 mM (0,00165 M)

Reemplazando esos valores en la ecuación, tendremos que:

$$\Delta G = -30.500 + 8{,}3 \times 298 \times \ln\left[\frac{0{,}00025 \times 0{,}00165}{0{,}00225}\right]$$

de donde ΔG = −51,8 kJ/mol. Esto significa que la energía libre producida por la hidrólisis del ATP en el espacio intracelular del eritrocito es mayor (−51,8 kJ/mol) que la producida bajo condiciones estándar de laboratorio (−30,5 kJ/mol).

El ATP y la transferencia de energía química

El ATP constituye el vínculo entre las reacciones productoras y las reacciones consumidoras de energía. Durante el catabolismo la producción de energía libre obtenida mediante la oxidación de los sustratos disponibles es conservada en la formación de ATP a partir de ADP + Pi (reacción de fosforilación del ADP). Después, en el anabolismo, cuando la energía es requerida para los diferentes trabajos biológicos, el ATP es hidrolizado en ADP + Pi, siendo transferida la energía de esta reacción para las reacciones acopladas que así lo requieren. La reacción de hidrólisis del ATP posee una variación de energía libre altamente negativa ($\Delta G^{0\prime}$ = −30,5 kJ/mol), lo cual significa que tiene alta tendencia a ser realizada, hecho que es favorecido por varios factores:

(a) El ATP posee, en promedio, 3,5 cargas negativas en el pH celular (7,4) en sus grupos hidroxilo disociables, y los productos de la hidrólisis tienden a repelerse por causa de sus cargas (**Figura 1.1**):

$$ATP^{4-} + H_2O \rightarrow ADP^{3-} + HPO_4^{2-}$$

(b) Los productos, especialmente el ion fosfato, tienden a estabilizarse como híbridos de resonancia (doble enlace con carácter de simple y viceversa) conteniendo, por tanto, menos energía libre (mayor estabilidad).

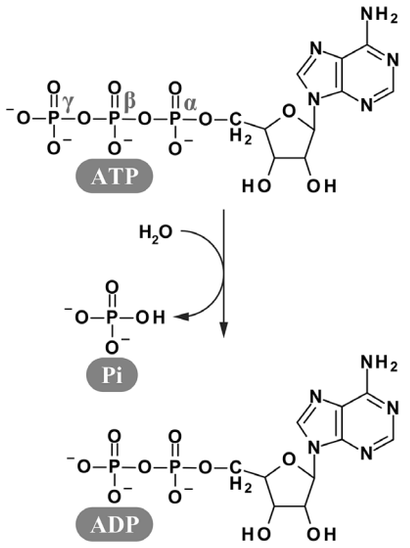


Figura 1.1. Reacción de hidrólisis del ATP

Los diferentes agrupamientos de fosfato del ATP están indicados con letras griegas.

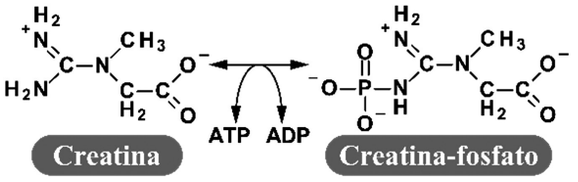
(c) Los complejos de Mg^{2+}, cofactor participante de la reacción, tienen mayor afinidad por el ATP que por el ADP.

La energía contenida en la unión fosfato no está determinada por la quiebra de esta unión fosfato, sino por la diferencia entre la energía libre de los productos y la energía libre de los sustratos. El ATP, sin embargo, no es el compuesto fosfatado de mayor energía, ocupando un lugar intermediario entre ellos (**Tabla 1.2**). Los compuestos fosfatados cuya energía libre de hidrólisis sea menor que −25 kJ/mol son considerados de baja energía, mientras que aquellos con mayor valor son considerados de alta energía, como es el caso del ATP.

El ATP y el ADP son reactivos obligatorios en casi todas las reacciones enzimáticas de transferencia de grupos fosfato. El ADP sirve como intermediario receptor del grupo fosfato que proviene de los compuestos fosfatados de alta energía y el ATP como donante del grupo fosfato para compuestos de baja energía. Las reacciones endergónicas o consumidoras de energía, las cuales están relacionadas, principalmente, con los procesos de síntesis, pueden ser realizadas en el metabolismo debido a que están acopladas con reacciones exergónicas, como la reacción de hidrólisis del ATP. De esa forma, las reacciones acopladas sirven para conservar la energía de oxidación, que se encuentra en la forma de ATP. Las reacciones acopladas representan procesos de dos etapas. En la primera, el grupo fosfato es transferido a un sustrato, mediante enlace covalente, conservando la alta energía de la unión fosfato. En la segunda etapa, el grupo fosfatado es desplazado para formar Pi, y la energía libre de esta hidrólisis es aprovechada para dirigir la reacción endergónica acoplada. Esto implica que las enzimas participantes en este tipo de reacción tengan sitios de unión tanto para el ATP como para los demás sustratos.

Como ejemplo de reacción acoplada puede ser citada la conservación de la energía de oxidación del gliceraldehído en la forma de ATP (**Figura 1.2**). En la primera reacción, la energía obtenida por la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato es utilizada para fosforilar el producto en el C1, convirtiéndolo en un compuesto de alta energía. En la segunda reacción, el compuesto energizado transfiere el grupo fosfato de C1 para el ADP, conservando la energía en la forma de ATP. El valor de $\Delta G^{0\prime}$, consideradas las dos reacciones, es de −49,3 kJ/mol, siendo, por tanto, favorable para que la reacción total ocurra.

El ATP no es un almacenador de energía, sino un intermediario (transmisor) de energía entre compuestos, mientras que la creatina-fosfato, compuesto formado en el tejido muscular a partir de la creatina, se constituye un almacenador de energía cuando la concentración de ATP en el músculo se encuentra elevada:



Cuando la concentración de ATP disminuye, durante la contracción muscular, la reacción se desplaza a la izquierda para regenerar el ATP necesario.

Existen algunas reacciones que consumen más energía que la generada con la hidrólisis simple del ATP. En esos casos, el ATP puede sufrir pirofosforólisis, una reacción de hidrólisis en el grupo fosfato β en vez del grupo γ, como ocurre en la hidrólisis común. Con eso, es generado AMP y un grupo pirofosfato (PPi: $H_2P_2O_7^{2-}$). Posteriormente, el PPi es desdoblado en dos moléculas de Pi (HPO_4^{2-}). La reacción de pirofosforólisis produce una cantidad de energía libre mayor ($\Delta G^{0\prime} = -43{,}1$ kJ/mol) que la hidrólisis normal ($\Delta G^{0\prime} = -30{,}5$ kJ/mol).

Tabla 1.2. Variación de energía libre de la hidrólisis de compuestos fosfatados de alta energía

Compuesto fosfatado	$\Delta G^{0\prime}$ (kJ/mol)
Fosfoenolpiruvato	−61,9
1,3-Difosfoglicerato	−49,4
Fosfocreatina	−43,1
ATP	−30,5
Glicose-1-fosfato	−20,9
Fructose-6-fosfato	−15,9
Glicose-6-fosfato	−13,8
Glicerol-3-fosfato	−9,2

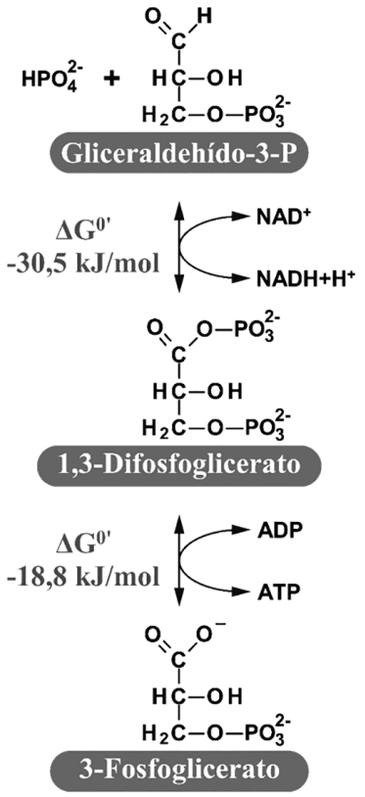


Figura 1.2. Síntesis de ATP a nivel de sustrato usando la energía de oxidación del gliceraldehído

1.2 Ciclos de la materia en la biosfera

El flujo de energía en la biosfera es de vía única. Así, la energía solar es captada por los organismos autotróficos, los cuales la aprovechan para realizar la fotosíntesis y la transfieren para los organismos heterotróficos. En estos, parte de la energía de cada una de las reacciones químicas es aprovechada para la producción de trabajo y parte es disipada, especialmente en forma de calor. De esa forma, la materia (C, H, O, N) es reciclada, siendo la energía libre degradada. En otras palabras: C, O, N y H_2O son reciclados en la biosfera entre los seres autotróficos y los heterotróficos, siendo la energía solar la fuerza direccional de estos procesos. Los ciclos biogeoquímicos comprenden la retirada y el retorno de los elementos químicos en la biosfera.

Ciclo del carbono

La vida en la biosfera depende del Sol y de los organismos autotróficos, los cuales utilizan la energía luminosa para, a partir del CO_2 de la atmósfera y del H_2O, sintetizar compuestos orgánicos, únicas fuentes de carbono utilizables por los seres vivos heterotróficos. Ejemplos de organismos autotróficos son las bacterias fotosintéticas y las hojas verdes de las plantas. Los organismos autotróficos reducen el CO_2 para sintetizar carbohidratos. Los organismos heterotróficos no pueden utilizar el CO_2 atmosférico, debiendo utilizar, como fuente de energía, los compuestos sintetizados por los organismos autotróficos, oxidándolos gracias al oxígeno atmosférico. En este proceso el CO_2 y el H_2O son liberados para el medio. El CO_2 es reciclado, siendo reutilizado por los organismos autotróficos. Ese evento constituye el ciclo del carbono en la biosfera. Aproximadamente $3{,}5 \times 10^{11}$ toneladas de CO_2 son liberadas anualmente a la atmósfera por los organismos heterotróficos, la mayor parte del cual es reciclada por los organismos autotróficos. Mucho del carbono puede quedar retenido por largos períodos en la forma de combustibles fósiles (carbón, petróleo), habiendo, por tanto, un intercambio demorado de carbono en la biosfera, diferente del intercambio rápido que existe entre el CO_2 utilizado en la fotosíntesis por las plantas y el liberado en la respiración por los animales. La combustión completa de los compuestos orgánicos libera dióxido de carbono (CO_2), mientras que la combustión incompleta, como la que ocurre en los motores de combustión interna, libera monóxido de carbono (CO), el cual es tóxico para los animales.

Ciclo del oxígeno

El oxígeno representa 21 % de la atmósfera, estando sobre todo como O_2, CO_2 y H_2O. Otras fuentes son nitratos (NO_3^-) y sulfatos (SO_4^{2-}). El más importante proceso formador de O_2 es la fotosíntesis. El ciclo del oxígeno está directamente relacionado con el ciclo del carbono. Los animales y vegetales fijan de manera directa el O_2 de la atmósfera, pero los vegetales, a diferencia de los animales, también liberan O_2 en el proceso de la fotosíntesis (fotólisis del agua). En el caso de los animales, el oxígeno es liberado en la forma de CO_2, y no libre, como es el caso de los vegetales. La fotosíntesis y la respiración, por ser cíclicas, se contrabalancean, no habiendo alteración en la cantidad de O_2 en la atmósfera. La mayor parte del O_2 atmosférico es producido por los organismos marinos y otra gran parte por los bosques.

Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno es el mayor componente atmosférico (78 % del aire). Sin embargo, el nitrógeno en forma soluble, esto es, en la forma biológicamente útil, es

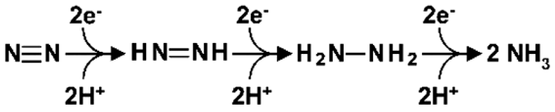
escaso en la naturaleza. Su forma más abundante es como nitrógeno molecular (N_2) presente en el aire, a partir del cual debe ser incorporado en los seres vivos. Algunos microorganismos pueden utilizar ese nitrógeno volátil a través del proceso denominado fijación biológica del nitrógeno, en el cual el N_2 atmosférico es reducido a amonio (NH_4^+). Entre esos organismos están las bacterias de los géneros *Nitrobacter* y *Rhizobium*, este último asociado a las raíces de leguminosas y a las algas cianofíceas. Un número relativamente abundante de bacterias del suelo, como las del género *Nitrossomonas*, las cuales obtienen su energía mediante la oxidación de NH_3, asimila el amonio oxidándolo para formar nitritos (NO_2^-). Posteriormente las bacterias del género *Nitrobacter* oxidan los nitritos a nitratos (NO_3^-). El proceso de oxidación del amonio hasta nitrato es conocido como nitrificación y constituye el modo por el cual prácticamente todo el NH_3 presente en el suelo es conservado, que, de otra forma, se volatilizaría. Otras fuentes de nitratos en el suelo son la combinación directa de N_2 con O_2 por acción de descargas eléctricas (rayos), la descomposición de materia orgánica y los fertilizantes nitrogenados. La fijación biológica del nitrógeno contribuye con cerca de 90% del N_2 fijado en la biosfera. Los nitratos y nitritos producidos por las bacterias nitrificantes son captados por las plantas, que los reducen de nuevo a NH_3 por acción de la enzima nitrato reductasa, en el proceso conocido como desnitrificación. El NH_3 dentro de las células vegetales es utilizado para la biosíntesis de aminoácidos y proteínas. Estas proteínas vegetales son después usadas por los animales para cubrir las demandas de aminoácidos. Con la muerte de los animales sus proteínas son degradadas, generando como producto nitrogenado el NH_3, que es devuelto al suelo para ser convertido nuevamente en nitratos y nitritos por las bacterias nitrificantes, cerrando así el ciclo del nitrógeno planta-animal-atmósfera. El nitrógeno puede ser excretado en los animales en la forma de urea (mamíferos), ácido úrico (aves y reptiles) o amonio (peces). De cualquier forma, el producto final de la descomposición siempre es el amonio. El nitrato también puede ser reducido a amonio por la acción de las bacterias desnitrificantes (*Pseudomonas spirilium*) y el N_2 retornar a la atmósfera por volatilización del NH_3. Se estima que 80 millones de toneladas de N_2 circulan entre la atmósfera y la biosfera anualmente.

Los organismos fijadores de nitrógeno pueden ser de varios tipos: (a) cianobacterias y algas verde-azules presentes en el suelo y en las aguas dulces y saladas, (b) *Azotobacter* o bacterias presentes en forma abundante en el suelo; y (c) bacterias en simbiosis con plantas leguminosas. Entre estas últimas, son importantes las bacterias del género *Rhizobium*, las cuales se localizan en los nódulos de las raíces de las leguminosas, fijan el nitrógeno para su propia multiplicación y para uso de la planta, y reciben a cambio compuestos necesarios para el propio proceso de fijación de nitrógeno, que la planta puede sintetizar pero que no utiliza en su metabolismo. Así, la planta sintetiza la porción hemo de la leghemoglobina, proteína de alta afinidad por el oxígeno, que la bacteria necesita para mantener bajos los niveles de O_2, que es inhibidor del proceso de fijación de N_2. El proceso de fijación de nitrógeno es bastante complejo y realizado por el sistema enzimático nitrogenasa. En este proceso ocurre reducción de una molécula de N_2 para producir dos moléculas de NH_3:

$$N_2 + 3\ H_2 \rightarrow 2\ NH_3$$

Esta reacción es bastante exergónica ($\Delta G^0 = -33{,}5$ kJ/mol), estando direccionada para la derecha bajo condiciones estándar. Sin embargo, el fuerte enlace covalente entre los dos nitrógeno de la molécula de N_2 representa una gran barrera energética de activación (energía de unión de 942 kJ/mol), la cual puede ser superada por el sistema nitrogenasa y por la energía de hidrólisis del ATP. El ATP también tiene una función catalítica, además de termodinámica en el proceso, pues se une a la enzima y causa un cambio conformacional que contribuye a disminuir la energía de activación del sistema. Los átomos de hidrógeno son donados por la coenzima NADPH a través de la ferredoxina, una proteína ferrosulfurada que transfiere los electrones al nitrógeno. Los hidrógeno iniciales son obtenidos por la oxidación del piruvato.

La reacción completa de la fijación del nitrógeno atmosférico se muestra en la **Figura 1.3**. El complejo nitrogenasa está formado por dos enzimas. La primera de ellas, la dinitrogenasa reductasa, es un homodímero con peso molecular total de 60 kD que posee un centro ferrosulfurado (Fe_4-S_4) de reducción-oxidación. La segunda es la dinitrogenasa, un tetrámero que contiene dos subunidades diferentes repetidas (peso molecular total de 240 kD) y un centro de Fe y Mo de óxido-reducción. Los ocho electrones necesarios en la reacción (seis para reducir el N_2 y dos para producir H_2 como parte obligatoria del mecanismo de la reacción) son transferidos por la dinitrogenasa reductasa en etapas sucesivas:



El sistema nitrogenasa es muy lábil en presencia de oxígeno. Así, las bacterias aeróbicas tienen mecanismos para evitar el aumento de O_2 en su interior, tales como paredes más gruesas que dificultan la difusión de O_2, desacoplamiento de la cadena de transporte de electrones para consumir rápidamente el O_2 y la acción de la leghemoglobina en las bacterias simbióticas con leguminosas. La leghemoglobina es una proteína de alta afinidad por O_2, llevándolo directamente a sus receptores en el sistema de transporte electrónico de la bacteria, impidiendo que quede soluble y aumente su concentración. Gracias a la fijación del nitrógeno atmosférico por las bacterias *Rhizobium* en simbiosis con las leguminosas, los suelos pueden ser enriquecidos mediante la utilización de esas culturas (fríjol, alfalfa, trébol, maní), disminuyendo así el uso de fertilizantes químicos. Los estudios de biología molecular y las técnicas del DNA recombinante tratan de identificar y caracterizar los genes relacionados con el complejo nitrogenasa para incorporarlos en bacterias y plantas (organismos transgénicos) que naturalmente no pueden captar el N_2 atmosférico. El desafío es conseguir también incorporar los mecanismos para evitar la acción inhibitoria del O_2 en el sistema, así como los mecanismos de regulación de la expresión de esos genes.

1.3 Metabolismo intermediario

El metabolismo corresponde al total de reacciones químicas que ocurren en una célula o en un organismo, reacciones que son realizadas en forma perfectamente coordinada y llevan al intercambio de materia y de energía entre la célula y su medio para la manutención de los procesos vitales del organismo. En las diferentes vías metabólicas existen, generalmente, los compuestos precursores, varios metabolitos intermediarios y los productos finales. El término 'metabolismo intermediario' es frecuentemente utilizado para referirse a todas las reacciones intermediarias de las diferentes etapas que componen las vías metabólicas.

Las funciones específicas del metabolismo son: (a) obtención de energía química a partir de moléculas combustibles, en el caso de los organismos heterotróficos, o a partir de la absorción de luz solar en el caso de los organismos autotróficos. Los primeros requieren formas reducidas de carbohidratos (glucosa) como fuente básica de energía, mientras que los últimos requieren solamente CO_2 como fuente de carbono exógeno, además de energía solar; (b) conversión de las moléculas exógenas (nutrientes) en unidades estructurales de las biomoléculas componentes del organismo animal; (c) montaje de estas unidades para formar biomoléculas más complejas, como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos; (d) formación y degradación de biomoléculas funcionales, como enzimas, hormonas, receptores, transportadores y coenzimas.

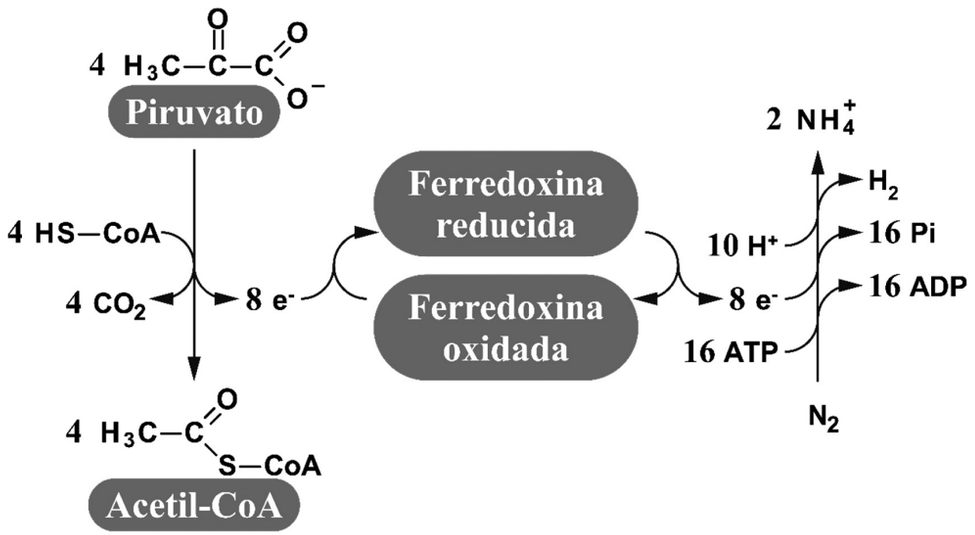


Figura 1.3. Reacciones químicas de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico

El metabolismo, a pesar de su aparente complejidad de vías y reacciones, puede ser resumido en dos fases: catabolismo y anabolismo. El catabolismo también es llamado fase degradativa u oxidativa. En las vías catabólicas las moléculas exógenas o las moléculas de reserva son degradadas mediante oxidación, resultando en moléculas más simples, tales como acetil-CoA, lactato, CO_2 o NH_3. Ese proceso está acompañado de producción de energía química mediante reacciones oxidativas que permiten la conservación de la energía en la forma de ATP y de coenzimas reducidas (NADH y NADPH). En el anabolismo, también conocido como fase biosintética o reductiva, ocurre la biosíntesis enzimática de moléculas complejas a partir de unidades simples. En este proceso es consumida la energía química obtenida mediante la producción de ATP y ocurren reacciones de reducción, para lo cual son utilizadas las coenzimas reducidas NADH y NADPH.

Las múltiples etapas presentes en las vías metabólicas son necesarias para hacer más flexible y versátil el metabolismo intermediario y realizar interconversiones. Si las rutas ocurrieran en una única etapa el metabolismo sería muy rígido e irreversible. También, a través de estas etapas, es posible maximizar la producción de ATP con la energía específica requerida en cada etapa. De otra forma, si la síntesis de ATP ocurriera en una sola etapa o en muy pocas etapas, sería liberada excesiva energía en pocas reacciones, produciéndose mucho calor y ocurriendo gran pérdida de energía.

Las vías metabólicas pueden ser lineares, cíclicas o ramificadas. Estas últimas pueden ser convergentes (catabolismo) o divergentes (anabolismo). El metabolismo, de forma global, comprende la integración de tres fases: (a) degradación y/o síntesis de moléculas complejas a partir de unidades simples; (b) producción de biomoléculas simples, que son compuestos intermediarios comunes de las rutas metabólicas, tal como el acetil-CoA; (c) oxidación completa de los compuestos intermediarios comunes hasta CO_2 y H_2O. Esta última fase también suministra las moléculas precursoras necesarias para las rutas biosintéticas, recibiendo el nombre de fase anfibólica, o sea, una fase que puede tener reacciones tanto degradativas como biosintéticas, dependiendo de las necesidades metabólicas.

Las rutas catabólica y anabólica generalmente tienen diferentes enzimas, aunque a veces pueden compartir caminos (enzimas) comunes. En el control del metabolismo es observado que las vías degradativa y de síntesis tienen rutas diferentes, lo cual es necesario porque: (a) el reverso de la ruta catabólica es un imposible energético; (b) la regulación del anabolismo y del catabolismo es diferente e independiente, lo cual significa que si una ruta está activa la otra debe estar interrumpida, y (c) las rutas ocurren generalmente en diferentes compartimentos celulares, por ejemplo, la oxidación de los ácidos grasos ocurre en la mitocondria, mientras que su síntesis ocurre en el citosol.

Las vías metabólicas son reguladas en tres niveles: (a) por la acción de las enzimas alostéricas, las cuales controlan vías metabólicas por modificación de sus actividades, a través de moduladores estimulatorios o inhibitorios; (b) por medio de hormonas, mensajeros químicos que regulan el metabolismo de órganos, tejidos y, en ocasiones, de aparatos y sistemas; este nivel de control puede tener efectos de mayor alcance que las enzimas alostéricas; (c) por la velocidad de las etapas metabólicas, que está en función de la concentración de las enzimas correspondientes, esto es, de la tasa de síntesis y degradación de esas enzimas, lo cual depende del control de la expresión génica en las células.

Frente a la gran cantidad de reacciones químicas existentes en el metabolismo y para encontrar sentido a determinada reacción o vía metabólica, es necesario preguntar: (a) ¿Qué ventaja tiene para la célula y para el organismo la realización de esa reacción o vía metabólica? (b) ¿Qué relación existe entre esa reacción o vía con otras vías metabólicas y cómo ellas favorecen el crecimiento y/o la manutención de las funciones de organismo? (c) ¿De qué forma los niveles de control del metabolismo que actúan sobre esa vía en particular contribuyen para mantener el equilibrio del organismo?

Función del ATP y del NAD en el metabolismo

La gran mayoría de la energía libre obtenida por la oxidación de los nutrientes durante el catabolismo es conservada mediante reacciones acopladas a la síntesis de ATP a partir de ADP y de fosfato inorgánico (Pi). Tanto ATP como ADP y Pi están presentes en todos los seres vivos y sirven universalmente como sistemas de transmisión de energía. La energía presente en el ATP es utilizada posteriormente en los procesos celulares que requieren energía (biosíntesis, contracción y motilidad,

transporte activo y transmisión de la información genética), pues el ATP transfiere su energía cuando ocurre la pérdida (hidrólisis) de su grupo fosfato y cuando esta reacción está acoplada con aquellas reacciones que demandan energía. El ADP resultante de la hidrólisis del ATP es nuevamente fosforilado en reacciones acopladas del catabolismo, que producen energía suficiente para regenerar ATP (fosforilaciones oxidativa y a nivel de sustrato). De esa forma, es generado un ciclo de energía en la célula, en el cual el ATP sirve de transmisor de energía, que liga las reacciones productoras de energía con las reacciones consumidoras de energía.

Una segunda forma de transferir la energía química del catabolismo para el anabolismo, simultáneamente con la fosforilación de ADP, es mediante el transporte de átomos de hidrógeno o de electrones. Los hidrógenos (o los electrones) son obtenidos a partir de la oxidación de los sustratos alimenticios por deshidrogenasas específicas, que los reciben de los sustratos reducidos y los transfieren a las coenzimas oxidadas NAD^+ y $NADP^+$:

$$NAD^+ + 2\ e^- + 2\ H^+ \rightarrow NADH + H^+$$
$$NADP^+ + 2\ e^- + 2\ H^+ \rightarrow NADPH + H^+$$

Esas coenzimas, al quedar en su forma reducida (NADH y NADPH), sirven de transportadores de electrones energizados, los cuales son transferidos de las reacciones catabólicas a las reacciones de síntesis que demandan electrones en los procesos reductivos. La concentración total de NAD^+ y NADH en la mayoría de los tejidos está en torno de 10^{-5} M, y la concentración de $NADP^+$ y NADPH es de 10^{-6} M. Cuando la relación NAD^+/NADH es alta en la célula son favorecidos los procesos oxidativos a fin de obtener la transferencia de electrones para NAD^+ y así aumentar la concentración de NADH. De modo inverso, cuando la relación NAD^+/NADH es baja son favorecidos los procesos reductivos, esto es, la transferencia de electrones a sustratos oxidados. Se conocen más de doscientas enzimas oxidoreductasas o deshidrogenasas que requieren NAD^+ o $NADP^+$ en reacciones de oxidación de sustrato, o NADH o NADPH en reacciones de reducción de sustrato. Otras coenzimas que participan en reacciones de transferencia de electrones son los nucleótidos flavínicos FMN y FAD, derivados de la riboflavina, cuyas formas reducidas son $FMNH_2$ y $FADH_2$.

La división del trabajo en el metabolismo

Cada célula, cada tejido y cada órgano en el organismo animal tienen una función específica, hecho que se refleja en su anatomía y en su actividad metabólica. El músculo esquelético usa la energía metabólica para el movimiento, el tejido adiposo almacena y libera grasa que sirve como combustible en las otras células del organismo, y las neuronas utilizan el transporte de iones y neurotransmisores a través de la membrana para la propagación de información. Los principales tejidos del organismo animal y el trabajo que ellos desempeñan serán discutidos a continuación.

El hígado

Este órgano ejerce un papel centralizador en el metabolismo, sintetizando y distribuyendo nutrientes a los órganos periféricos por la circulación sanguínea. La importancia del hígado como órgano centralizador está claramente expresada en el hecho de que los otros órganos y tejidos son llamados extrahepáticos o periféricos. Durante la digestión, en el tracto gastro-intestinal, las tres principales clases de nutrientes (carbohidratos, proteínas y lípidos) sufren hidrólisis enzimática para ser convertidos en sus monómeros básicos. Esa quiebra es necesaria porque las células del epitelio intestinal solamente pueden absorber moléculas pequeñas (monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos, monoglicéridos). Los rumiantes absorben ácidos grasos volátiles y amonio en el rumen. Después de la absorción, la mayoría de los monosacáridos y aminoácidos, así como algunos triglicéridos, son llevados por el sistema portal hepático al hígado. Algunos triglicéridos van vía linfática a la circulación sanguínea y alcanzan el tejido adiposo. En el hígado los nutrientes absorbidos son transformados en combustibles o en moléculas precursoras que serán requeridas en otros tejidos periféricos. El hígado ajusta su metabolismo de una forma flexible y rápida, en función del tipo de nutriente que el organismo recibe.

En la **Figura 1.4** se presenta un esquema simplificado del metabolismo hepático, con las rutas metabólicas numeradas que serán referenciadas en el texto a seguir, entre corchetes.

La glucosa que llega al hígado es fosforilada y convertida en glucosa-6-fosfato por la enzima

glucoquinasa [1]. Otros monosacáridos, como fructosa, galactosa o manosa, son convertidos en glucosa-6-fosfato por vías metabólicas alternativas [2]. La glucosa-6-fosfato está en un cruzamiento de caminos de las rutas de los carbohidratos en el hígado. Ella puede tomar cinco posibles rutas, dependiendo de las necesidades metabólicas del organismo. Esas rutas están controladas por enzimas reguladoras (enzimas alostéricas) o por hormonas que controlan la actividad de ciertas enzimas. Las posibles rutas de la glucosa-6-fosfato en el hígado son las siguientes:

(a) Puede ser defosforilada por la enzima glucosa-6-fosfatasa, generando glucosa libre, la cual es exportada para mantener la concentración de glucosa en la sangre [3]. Tal concentración debe estar siempre constante (4-5 mM) para que el aporte de energía al cerebro y a otros tejidos sea mantenido.

(b) Si no hay necesidad de glucosa en la sangre, la glucosa-6-fosfato es convertida en glicógeno hepático y almacenado [4].

(c) Puede ser oxidada para la producción de energía vía glucólisis [5], descarboxilación del piruvato [6] y ciclo de Krebs [7 → 8]. Sin embargo, en el hígado, el combustible preferido para la producción de energía son los ácidos grasos.

(d) Cuando hay un exceso de ingestión de carbohidratos, no siendo necesario reponer la glucosa sanguínea, y cuando el hígado satura su capacidad de almacenamiento de glicógeno, la glucosa-6-fosfato es degradada vía glucólisis hasta acetil-CoA [5 → 6]. Este compuesto es usado para sintetizar ácidos grasos [9], los cuales son incorporados a los triglicéridos [10], fosfolípidos [11] y colesterol [12]. Esos lípidos son llevados para otros tejidos mediante las lipoproteínas [13].

(e) Finalmente, la glucosa-6-fosfato puede entrar en la ruta de las pentosas-fosfato [14] con la finalidad de producir la coenzima reducida NADPH [15], necesaria para la biosíntesis de ácidos grasos y colesterol, y ribosa-5-fosfato, necesaria para la biosíntesis de nucleótidos.

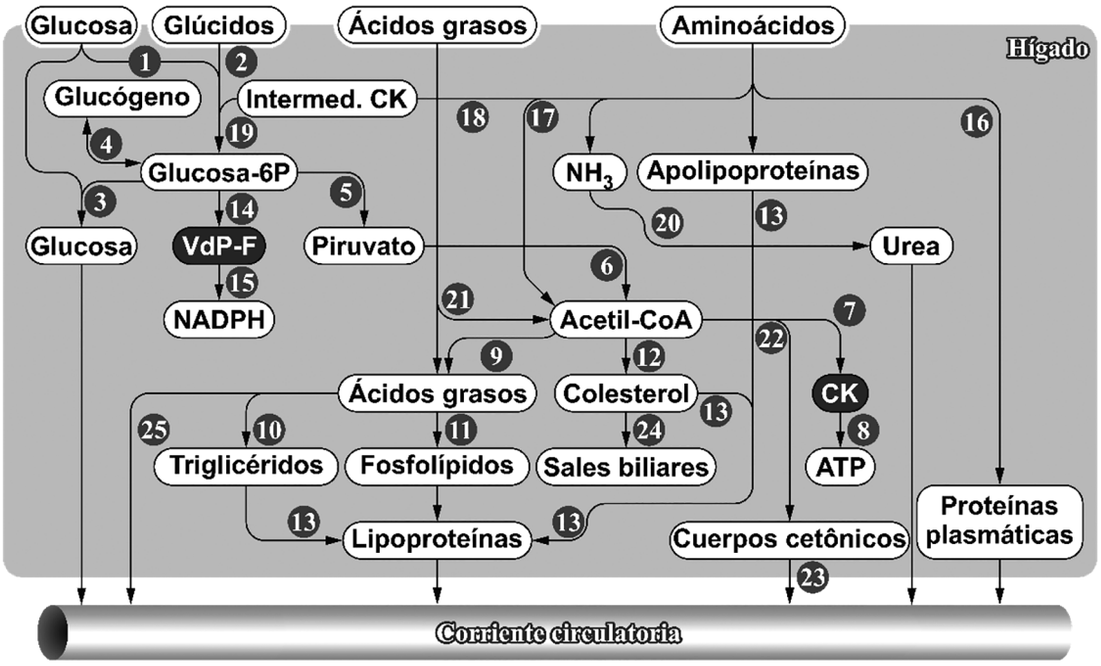


Figura 1.4. Esquema del metabolismo hepático de lípidos, glúcidos y proteínas.

Los nombres de los metabolitos están en fondo blanco mientras que los nombres de las rutas metabólicas están en fondo gris oscuro. Los números correspondientes a las diferentes rutas están referenciados en el texto. VdP-F, vía de las pentosas-fosfato; CK, ciclo de Krebs.

En los animales rumiantes generalmente no ocurre exceso de glucosa, pues los carbohidratos de la dieta son convertidos, en el rumen, en ácidos grasos volátiles. Tales ácidos son absorbidos por el epitelio del rumen y transportados por la sangre al hígado (principalmente propionato y acetato) o al tejido adiposo (sobre todo butirato y β-hidroxibutirato). La manutención de los niveles de glucosa sanguínea en los rumiantes está en especial determinada por la conversión del propionato en glucosa vía gliconeogénesis.

Los aminoácidos que llegan al hígado tienen varias rutas metabólicas:

(a) Pueden actuar como precursores de proteínas, para uso dentro del hígado o para formar proteínas plasmáticas [16].

(b) Pueden pasar al torrente circulatorio e ir a los órganos periféricos, donde son utilizados como precursores de proteínas.

(c) Pueden servir de precursores de compuestos no proteicos, tales como nucleótidos y hormonas.

(d) Cuando no son necesarios como precursores de proteínas o de otros compuestos, son desaminados y degradados para producir acetil-CoA [17] e intermediarios del ciclo de Krebs [18]. Los intermediarios de ese ciclo pueden ser utilizados para generar glucosa vía gliconeogénesis [19]. El acetil-CoA puede ser utilizado para generar energía mediante su completa oxidación en el ciclo de Krebs [7 → 8], o servir como precursor para la biosíntesis de ácidos grasos [9]. El grupo amina, en la forma de amonio (NH_4^+), es convertido en urea [20] para ser excretado, pues es tóxico.

Los ácidos grasos que llegan al hígado pueden tener diferentes destinos metabólicos:

(a) Su oxidación hasta acetil-CoA (a través de la β-oxidación) para la producción de energía [21]. El acetil-CoA, a su vez, puede entrar al ciclo de Krebs para producir más energía [7 → 8].

(b) El exceso de acetil-CoA producido en la oxidación de los ácidos grasos puede generar cuerpos cetónicos (acetoacetato y β-hidroxibutirato) [22], los cuales pueden ir a los tejidos periféricos [23] para servir de combustible vía ciclo de Krebs. Los cuerpos cetónicos pueden constituir una importante fracción de la energía utilizada por los órganos periféricos (30% en el corazón, 70% en el cerebro) especialmente en situaciones de ayuno prolongado, cuando la glucosa se encuentra deficitaria y la fuente de energía proviene de la oxidación de los ácidos grasos.

(c) Parte del acetil-CoA proveniente de los ácidos grasos o de la glucosa es utilizado para sintetizar colesterol [12], el cual es esencial para la estructura de las membranas y como precursor de los ácidos biliares [24] y de las hormonas esteroides.

(d) Pueden hacer parte de los fosfolípidos y de los triglicéridos de las lipoproteínas del plasma [10 → 13 y 11 → 13], las cuales transportan lípidos al tejido adiposo para su almacenamiento (en la forma de triglicéridos).

(e) Pueden seguir a la sangre, siendo transportados por la albúmina sérica [25] y pudiendo ser captados por las células musculares cardíacas y esqueléticas (por difusión pasiva), donde son utilizados como fuente de energía. La albúmina es la proteína más abundante en la sangre. Una molécula de albúmina puede transportar hasta diez moléculas de ácidos grasos.

Además de servir como órgano centralizador, procesador y distribuidor de nutrientes, el hígado también sirve como órgano detoxificante de compuestos orgánicos exógenos, tales como drogas, aditivos de alimentos, agentes preservativos y otros agentes dañinos sin valor nutricional. En el proceso de detoxificación está involucrada una hidroxilación del compuesto, con acción del citocromo P-450, el cual vuelve al compuesto más soluble para ser excretado.

El tejido adiposo

El tejido adiposo, compuesto por las células adiposas o adipocitos, es un tejido amorfo distribuido ampliamente por todo el organismo: bajo la piel, alrededor de los vasos sanguíneos mayores y en la cavidad abdominal. En condiciones normales forma hasta 15% del peso de un animal adulto. Los adipocitos son células metabólicamente muy activas, que responden a estímulos hormonales, interactuando con el hígado, el tejido muscular esquelético y el corazón. Las células adiposas pueden realizar la glucólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa.

Cuando la ingestión de carbohidratos es abundante los adipocitos pueden convertir la glucosa en acetil-CoA, vía piruvato, para sintetizar ácidos grasos y, después, triglicéridos, los cuales son almacenados en grandes glóbulos de grasa en el interior de los adipocitos. Los adipocitos también almacenan los triglicéridos provenientes del hígado y del tracto gastrointestinal, que llegan por la sangre transportados en las VLDL (lipoproteínas de densidad muy baja). Cuando es necesario, los triglicéridos almacenados en los adipocitos son hidrolizados por lipasas, que liberan los ácidos grasos, los cuales pasan a la circulación sanguínea y van para el músculo esquelético y el corazón. Las lipasas de los adipocitos son sensibles a la acción de algunas hormonas: la adrenalina y el glucagón estimulan su actividad, mientras que la insulina la inhibe.

El tejido muscular

El tejido muscular consume cerca del 50 % del oxígeno que entra en el organismo en condiciones de reposo o de ejercicio leve y 90 % en condiciones de trabajo muscular intenso. El metabolismo de la célula muscular está especializado en generar ATP como fuente inmediata de energía. Está adaptado para hacer su trabajo mecánico de forma intermitente, o sea, trabajo intenso en corto tiempo (como en una rápida corrida) o trabajo lento durante un intervalo mayor (como en una larga caminata).

El músculo puede usar ácidos grasos, cuerpos cetónicos o glucosa como combustibles, dependiendo del grado de actividad muscular. Durante el reposo o en trabajo muscular leve, la fuente primaria de combustible son los ácidos grasos provenientes del tejido adiposo y los cuerpos cetónicos provenientes del hígado. Ellos entran al ciclo de Krebs en la forma de acetil-CoA para su completa oxidación hasta CO_2 y para la producción de ATP mediante fosforilación oxidativa. En trabajo muscular moderado es utilizada la glucosa, además de los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos. La glucosa sufre glucólisis, generando acetil-CoA, el cual entra en el ciclo de Krebs para la producción de energía (ATP). Cuando la actividad muscular es intensa la demanda por ATP es muy alta, y el oxígeno y los combustibles que llegan al músculo por la sangre son insuficientes para producir, solamente mediante respiración aeróbica, la cantidad de ATP requerida. En esas condiciones, el glicógeno almacenado en el músculo es metabolizado a glucosa, que es degradada vía glucólisis anaeróbica generando dos moléculas de lactato y dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa. El uso de glicógeno muscular como combustible de emergencia para producir ATP en el músculo es favorecido por la adrenalina, que estimula la degradación del glicógeno hepático para liberar más glucosa en la sangre, y del glicógeno muscular, para generar glucosa en el músculo. Como el tejido muscular no posee la enzima glucosa-6-fosfatasa, no puede convertir la glucosa-6-fosfato en glucosa libre a fin de que esta última pueda ser usada para mantener la glicemia. En otras palabras, el glicógeno muscular es utilizado en la producción de energía exclusivamente para el músculo. Sin embargo, la cantidad de glicógeno en el músculo es limitada, máximo 1 % del peso total de la masa muscular, para que pueda ser usado indefinidamente. Por otro lado, la acumulación de lactato, producto final de la glucólisis anaeróbica, y la consecuente disminución del pH, reducen la eficiencia de la actividad muscular. Después de intensa actividad muscular la frecuencia respiratoria continúa aumentada por más tiempo. Eso ocurre porque el oxígeno es usado para la obtención de ATP mediante fosforilación oxidativa (respiración celular), siendo este ATP usado para la síntesis de nueva glucosa a partir del lactato producido durante el ejercicio. El lactato generado en estos procesos debe ser llevado, a través de la sangre, desde el músculo hasta el hígado, para que sea realizada la vía gliconeogénica. La glucosa así sintetizada retorna al músculo para reponer el glicógeno gastado y completar el llamado ciclo de Cori.

El músculo esquelético también posee grandes cantidades de fosfocreatina, compuesto almacenador de energía gracias a su capacidad para transferir grupos fosfato. Cuando no hay necesidad energética en el músculo la creatina es fosforilada a costa de la transferencia del grupo fosfato del ATP. En períodos de intensa actividad muscular el sentido de la reacción es invertido, produciendo ATP.

El músculo cardíaco difiere del músculo esquelético en las siguientes características: (a) el músculo cardíaco está continuamente activo, en un proceso permanente de contracción y relajamiento; (b) el corazón tiene un metabolismo completamente aeróbico; (c) el tejido cardíaco posee un número mucho mayor de mitocondrias, las cuales ocupan más de la mitad del volumen de las células. Los combustibles

usados para el funcionamiento cardíaco son una mezcla de glucosa, ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos, provenientes de la sangre. De modo similar al músculo esquelético, el músculo cardíaco tiene poca capacidad de almacenamiento de glicógeno y tiene algunas reservas de energía en la forma de fosfocreatina. El corazón es estrictamente aeróbico, obteniendo su energía de la fosforilación oxidativa. Cualquier falla que impida al O_2 alcanzar una porción de músculo cardíaco, como en una obstrucción de los vasos sanguíneos del corazón por depósitos grasos (aterosclerosis) o por coágulos (trombosis coronaria), causa la muerte de aquella región del corazón en la cual faltó oxígeno, evento conocido como infarto del miocardio.

El cerebro

El metabolismo del cerebro presenta algunas peculiaridades en relación con los otros órganos. En los mamíferos adultos el cerebro usa, normalmente, glucosa como combustible y tiene un metabolismo respiratorio muy activo. Casi 20% del oxígeno consumido por el organismo es gastado en el cerebro sin que este gasto tenga mucha variación durante la vigilia o el sueño. Como el cerebro contiene muy poco glicógeno, es dependiente de la glucosa sanguínea. Si ocurre una disminución en el nivel de glucosa sanguínea pueden ocurrir daños irreparables en la función cerebral.

El cerebro no puede usar directamente ácidos grasos como combustible, aunque en ocasiones de ayuno prolongado utiliza β-hidroxibutirato, el cual es formado a partir de ácidos grasos en el hígado. El cerebro puede oxidar el β-hidroxibutirato vía acetil-CoA, evitando que se gasten proteínas musculares, usadas como fuente de energía por otros órganos durante períodos prolongados de ayuno. El cerebro puede realizar glucólisis aeróbica y ciclo de Krebs para obtener el ATP necesario en su actividad. El ATP se requiere para originar y mantener el potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de las neuronas durante la transmisión de impulsos nerviosos. La membrana plasmática de las células nerviosas posee un transportador antiporte dependiente de ATP, que lleva iones K^+ al interior e iones Na^+ al exterior de la neurona. Para cada molécula de ATP hidrolizada, tres iones Na^+ son transportados hacia fuera de la neurona y dos iones K^+ entran. Con eso se genera una diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana de la neurona, que tiene el lado interior negativo en relación con el exterior. Los cambios de potencial transmembranal constituyen señales eléctricas transitorias que pasan de una neurona a otra y son la principal forma de transferencia de información en el sistema nervioso.

La sangre

La corriente circulatoria es el medio de interconexión entre todos los tejidos. A través de ella son transportados los nutrientes desde el tracto gastrointestinal hasta el hígado y de este al tejido adiposo y demás órganos. También son transportados los productos de excreción de todos los tejidos para el riñón, el oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos y el CO_2 generado en la respiración celular desde los tejidos hasta los pulmones. Por la sangre son transportadas las hormonas de un tejido a otro, es así como el tejido nervioso sirve de regulador e integrador de las actividades entre los diferentes órganos.

La sangre constituye del 8% al 10% del peso de un animal. Casi la mitad de este volumen es ocupado por tres tipos de células sanguíneas: (a) los eritrocitos, que constituyen la gran mayoría y contienen hemoglobina, especializados en transportar O_2; (b) los leucocitos, que están en menor número que los eritrocitos, son de varios tipos y tienen funciones de defensa contra las infecciones, y (c) las plaquetas (trombocitos), que contribuyen al proceso de coagulación de la sangre.

La fracción líquida de la sangre está constituida por el plasma sanguíneo, que contiene 90% de agua y 10% de solutos. Entre los solutos do plasma están: (a) las proteínas plasmáticas (70% del total de solutos), entre ellas la albúmina, las lipoproteínas VLDL, LDL (lipoproteínas de baja densidad), HDL (lipoproteínas de alta densidad), las inmunoglobulinas (anticuerpos), el fibrinógeno, la protrombina, las proteínas transportadoras y las hormonas peptídicas; (b) moléculas orgánicas pequeñas (20% de los solutos), como glucosa, aminoácidos, lactato, piruvato, cuerpos cetónicos, citrato, urea y ácido úrico; (c) compuestos inorgánicos (10% de los solutos) tales como NaCl, ión bicarbonato, ión fosfato, $CaCl_2$, $MgCl_2$, KCl y Na_2SO_4. Los solutos de bajo peso molecular presentes en la sangre están en constante flujo entre este y los otros tejidos. La entrada de iones inorgánicos por la alimentación es equilibrada con la eliminación

a través del riñón. Algunos de los iones tienen un estado dinámico estable, o sea, son intercambiados entre la sangre y los tejidos, pero su concentración no varía mucho. Así, los niveles de Na^+, K^+, y Ca^{2+} en la sangre son mantenidos en torno de 140 mM, 5 mM y 2,5 mM, respectivamente, control este ejercido por el riñón.

La concentración de glucosa también es mantenida constante. En animales monogástricos está en torno de 80 mg/dL (4,5 mM) y en rumiantes alrededor de 60 mg/dL (3,3 mM). Una caída del nivel de glucosa sanguínea (hipoglucemia) lleva a fallas en la función cerebral, causando confusión mental. Abajo de cierto nivel (menor que 30 mg/dL) ocurre letargo, coma, convulsiones y muerte. El nivel de glucosa en la sangre es controlado hormonalmente por la insulina, la cual tiene acción hipoglucemiante, y por el glucagón y la adrenalina, que tienen efecto hiperglucemiante.

1.4 Enzimas

Las enzimas ilustran la gran variedad de proteínas existentes en la naturaleza. Gracias a ellas son posibles todas las reacciones químicas que ocurren en los seres vivos y permiten mantener la vida. El proceso enzimático más antiguo que se conoce es el de la fermentación de la glucosa hasta etanol, realizado por las levaduras, descrito por Pasteur en 1850. El término 'enzima' (del griego *en,* 'en el interior' y *zimé*, 'levadura o fermento', "en la levadura") fue propuesto por Pasteur en 1877, pues se creía que las enzimas no podían actuar fuera de las células. Sin embargo, el gran acontecimiento que marcó la historia de la enzimología y de la bioquímica misma fue el aislamiento de todas las enzimas que participan en el proceso de fermentación de la glucosa, realizado por Büchner en 1897, probando que las enzimas podían actuar en forma aislada de las células. Después, Sumner, en 1926, aisló la enzima ureasa en forma cristalina y propuso que era una proteína. No obstante, un conocido bioquímico de la época, Willstäter, rechazó esta tesis alegando que las enzimas eran moléculas de bajo peso molecular. Finalmente, Northrop, en 1930, trabajando con pepsina y tripsina, mostró evidencias contundentes de que las enzimas eran proteínas (Semenza, 2003). Hoy se conocen clasificadas cerca de 2.000 enzimas, prácticamente todas proteínas, a excepción de un pequeño grupo de ácidos nucleicos (RNA) con acción catalítica (ribozimas).

La función catalítica de las enzimas depende de que su estructura esté intacta. Agentes físicos o químicos tales como calor o extremos de pH o agentes desnaturantes causan pérdida de la acción catalítica. El metabolismo depende de la acción directa de las enzimas y de su control a través de diferentes mecanismos que envuelven las hormonas, la expresión génica y el autocontrol a partir de los metabolitos resultantes de la acción enzimática. Las enzimas poseen las siguientes características: (a) alto grado de especificidad, determinado por el sitio activo de la molécula proteica enzimática, donde la unión sustrato-enzima es específica, pudiendo haber especificidad absoluta (a un compuesto) o relativa (a un grupo de compuestos); (b) son catalizadores que no generan subproductos, o sea que no sufren alteraciones durante la catálisis, y su eficiencia catalizadora es del 100 %; y (c) actúan en soluciones intracelulares, esto es, en soluciones acuosas bajo condiciones de temperatura y pH moderadas (37 ºC y 7,4, respectivamente).

Clasificación sistemática de las enzimas

Además de los nombres genéricos con que son conocidas las enzimas (formados según un sistema basado por lo general en la adición del sufijo *asa* al nombre de su sustrato o a una palabra que describa su actividad), existe una nomenclatura dentro de un sistema internacional, elaborado por la Comisión de Enzimas de la IUB (International Union of Biochemistry). Este sistema está basado en el tipo de reacción catalizada, estableciendo seis clases de enzimas, las cuales tienen subclases e sub-subclases. Cada enzima tiene designado un código de cuatro dígitos. Las seis clases, que corresponden al primer dígito, son las siguientes:

1. Oxidorreductasas: transfieren electrones.
2. Transferasas: transfieren grupos funcionales.
3. Hidrolasas: participan en reacciones de hidrólisis (transfieren grupos funcionales al agua).
4. Liasas: adicionan grupos a enlaces dobles, o forman enlaces dobles por remoción de grupos.
5. Isomerasas: producen formas isoméricas mediante la transferencia de grupos.
6. Ligasas (sintetasas): condensan grupos en reacciones acopladas con la hidrólisis del ATP, formando uniones C-C, C-S, C-O y C-N.

Los demás dígitos corresponden a subgrupos específicos de acción de la enzima.

Cinética enzimática

Para que una reacción ocurra ella debe vencer la energía de activación de esa reacción, es decir, aquella cantidad de energía aplicada al sustrato de la reacción necesaria para superar la barrera energética a fin de generar un producto. Una forma de superar la energía de activación para aumentar la velocidad de una reacción es aumentando la temperatura del sistema, obteniendo así mayor interacción entre las moléculas. La velocidad de la reacción es duplicada por cada 10 ºC de aumento en la temperatura del sistema. Sin embargo, en las células, donde las condiciones son isotérmicas y las condiciones de pH son casi neutras, las enzimas actúan como catalizadores, esto es, como otra forma de aumentar la velocidad de una reacción. Las enzimas actúan disminuyendo la energía de activación de la reacción debido a la formación de un complejo con el sustrato que causa cambios conformacionales y facilita el paso del estado transicional a la generación del producto. La catálisis ocurre en el sitio activo de la enzima, donde solamente se une el sustrato específico, mediante interacciones que, generalmente, son de tipo no covalente. Las enzimas pueden aumentar la velocidad de la reacción, pero no afectan el equilibrio termodinámico de la reacción; así, esta obedece a cambios de energía libre del sistema, o sea que es realizada en el caso de ser energéticamente posible. La velocidad de la reacción puede aumentar, debido a la acción catalítica de la enzima, desde 10^7 veces (como en la anhidrasa carbónica) hasta 10^{14} veces (como en la ureasa). Este evento es posible porque el sitio activo de la enzima es complementario con el estado energético de transición del sustrato (después de superar la energía de activación), esto es, la interacción óptima entre el sustrato y el sitio activo de la enzima es obtenida en el estado energético de transición y no en el estado basal.

La cinética enzimática es estudiada *in vitro* con las enzimas purificadas, identificando el efecto de varios factores, como la concentración del sustrato y los cambios de pH y temperatura, sobre la velocidad de la reacción.

Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de la reacción enzimática

La velocidad de la reacción enzimática, expresada como velocidad inicial (V_0), aumenta con el incremento en la concentración del sustrato [S] cuando se mantiene constante la concentración de la enzima. Este aumento continúa hasta un punto en el cual se obtiene la velocidad máxima de reacción (V_{max}). Dicha velocidad máxima corresponde al punto de saturación de la enzima, es decir, cuando el número de moléculas del sustrato excede al número de moléculas de la enzima. A partir de ese punto la velocidad de la reacción se mantiene constante. En bajas concentraciones de sustrato la V_0 aumenta de forma linear a medida que la concentración del sustrato aumenta. No obstante, después de determinada [S], la velocidad se vuelve cada vez más lenta hasta llegar a cero, o sea, cuando no hay más aumento de V_0, alcanzando la V_{max}. La curva correspondiente a esta reacción describe una hipérbole rectangular con una asíntota en V_{max} (**Figura 1.5**). Michaelis y Menten, en 1913, estudiaron la cinética que tienen las reacciones catalizadas por enzimas con un sustrato (Nelson & Cox, 2000). La reacción presupone la formación de un complejo de la enzima con el sustrato, que posteriormente libera el producto y la enzima libre:

$$E+S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} E+P$$

Las dos reacciones son reversibles y tienen sus propias constantes de velocidad: k_1 (k_{-1} en el sentido inverso) y k_2 (k_{-2} en el sentido inverso) que determinan la velocidades de reacción. La segunda reacción es más lenta, limitando la velocidad de la reacción, la cual está determinada por la concentración del complejo ES.

La enzima puede estar en forma libre (E) o unida al sustrato (ES). Cuando hay baja [S] la mayor parte de la enzima está en forma libre (E). Así, habrá poco [ES] y la velocidad de la reacción será baja. Cuando aumenta [S] hay mayor [ES] disponible y la reacción incrementa su velocidad, al punto que toda la enzima estará como ES, esto es, cuando alcanza el punto de saturación. Cuando [ES] es constante, la velocidad de la reacción también se mantiene constante (*plateau* de la curva). Michaelis y Menten dedujeron una constante que es indicadora de la velocidad de la reacción y, por extensión, del grado de afinidad que la enzima tiene por su sustrato. Esta constante de Michaelis-Menten (K_M), es definida como la concentración de sustrato (molar) necesaria para que la mitad de la velocidad máxima (½Vmax) de la reacción sea alcanzada. La relación entre la concentración de sustrato y la velocidad de

la reacción puede ser expresada matemáticamente a partir de la ecuación de Michaelis-Menten:

$$V_0 = \frac{V_{max} \times [S]}{K_M + [S]}$$

Dónde:
V_0 = velocidad inicial
V_{max} = velocidad máxima
K_M = constante de Michaelis-Menten
[S] = concentración del substrato (mol/L).

Cuando la velocidad de reacción (V_0) es la mitad de la velocidad máxima, o sea, cuando $V_0 = V_{max}/2$, la ecuación será:

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} \times [S]}{K_M + [S]}$$

Dividiendo ambos términos por V_{max} se tiene:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Esto es:
$K_M + [S] = 2[S]$
$K_M = [S]$

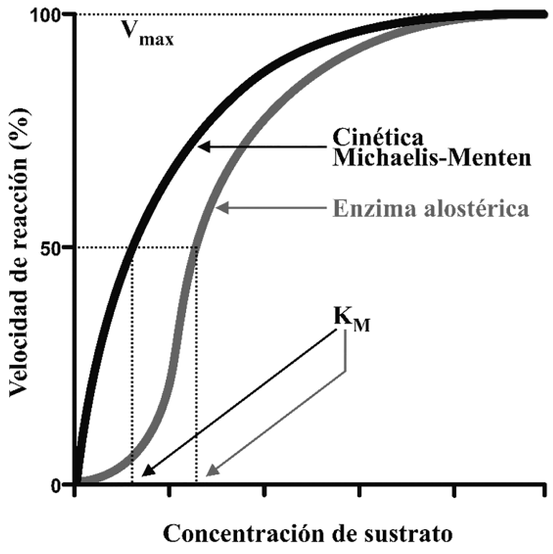


Figura 1.5. Cinética en enzimas alostéricas y no alostéricas

La deducción anterior explica la definición de la constante de Michaelis-Menten, o sea la concentración de sustrato necesaria para obtener la mitad de la velocidad máxima de la reacción. La ecuación de Michaelis-Menten es útil para determinar V_{max} y K_M de una enzima. Sin embargo, por el hecho de corresponder a una ecuación hiperbólica, es más fácil trabajar con transformaciones para volverla linear. Es el caso de la ecuación de los dobles recíprocos o ecuación de Lineweaver-Burk, basada en la inversión de la ecuación de Michaelis-Menten:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M + [S]}{V_{max} \times [S]}$$

Transformándola, separando los términos del lado derecho de la ecuación, tenemos:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max} \times [S]} + \frac{[S]}{V_{max} \times [S]}$$

Simplificando, tenemos la ecuación de Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Esta ecuación puede ser considerada como la de una línea recta (y = ax + b), donde:

$y = 1/V_o$
$x = 1/[S]$
$a = K_M/V_{max}$
$b = 1/V_{max}$

Esta linearización es muy útil para calcular la K_M de una enzima de forma más confiable. La K_M puede ser aplicada a aquellas enzimas cuya cinética muestra una curva hiperbólica (cinética Michaelis-Menten). Los valores de K_M y de V_{max} son característicos de cada enzima y pueden variar para los diferentes sustratos de la misma enzima (**Tabla 1.3**). En las reacciones enzimáticas, donde participa más de un sustrato, existe una K_M para cada sustrato. Así, en la reacción de fosforilación de la glucosa por la hexoquinasa, donde el donador del grupo fosfato es el ATP:

Glucosa + ATP → glucosa-6-fosfato + ADP

El valor de K_M de la hexoquinasa es 0,05 M para la glucosa y 0,4 M para el ATP, indicando que la enzima tiene mayor afinidad por la glucosa que por el ATP.

Efecto del pH y la temperatura sobre la velocidad de la reacción enzimática

Las enzimas poseen valores óptimos de pH y temperatura, esto es, aquellos puntos en los que su actividad es mayor. El grado de ionización de los grupos ionizables de la enzima, el cual depende del pH, influye en la interacción del sitio activo de la enzima con su sustrato. Así, a nivel intracelular, el pH del medio controla la actividad de la enzima, pues el pH óptimo no es necesariamente el pH del medio. Diferentes enzimas pueden tener distintos valores de pH óptimo, en función del pH del medio donde actúan. Así, en la pepsina del jugo gástrico el pH óptimo es de 1,6 (pH del estómago: 1-2); en la glucosa-6-fosfatasa del hepatocito, es de 7,8 (pH del hepatocito: 7,2); en la fosfatasa alcalina del epitelio intestinal, es de 10. Una vez que ninguna célula del organismo tiene un valor de pH tan alcalino, en este caso, como en algunos otros, se presume que el pH del medio sea un factor de control sobre la actividad enzimática.

El aumento de la temperatura, cuando las enzimas son analizadas *in vitro*, hasta cierto punto provoca un incremento de la actividad enzimática mediante la disminución de la energía de activación de la reacción. No obstante, como la mayoría de las enzimas son proteínas termolábiles, ellas se desnaturan cuando se exponen a altas temperaturas, perdiendo su actividad.

Medida de la actividad enzimática

La actividad enzimática puede ser medida conociendo las siguientes variables: (a) los sustratos, los productos y los cofactores de la reacción enzimática; (b) un método para analizar cualquiera de las sustancias anteriores; (c) la estequiometría de la reacción, y (d) los valores óptimos de pH y temperatura de la actividad de la enzima estudiada. La actividad enzimática se expresa en unidades internacionales (UI). Una UI es la cantidad de enzima necesaria para transformar 1 µmol de sustrato por minuto, a 25 ºC, bajo condiciones óptimas de trabajo. La actividad de las enzimas de uso en clínica se expresa en U/L. La actividad específica de una enzima corresponde al grado de actividad y de purificación de la enzima, siendo expresada como UI/mg de proteína, esto es, tiene mayor valor mientras más purificada esté la enzima. La actividad enzimática también puede ser medida por el número *turnover* o número de conversión, también expresado como *kcat* (constante de catálisis). Esa constante equivale al número de moléculas de sustrato transformadas por una molécula de enzima por segundo cuando la enzima está saturada con este sustrato. El número *turnover* es medido con la enzima purificada y con un sustrato específico (**Tabla 1.4**).

Tabla 1.3. Constantes de Michaelis-Menten (mM) de algunas enzimas

Enzima	Sustrato	K_M
Catalasa	H_2O_2	25
Hexoquinasa	Glucosa	0,05
	Fructosa	1,5
	ATP	0,4
AST	Aspartato	0,9
	α-cetoglutarato	0,1
	Oxalacetato	0,04
	Glutamato	4
Anhidrasa carbónica	HCO_3^-	9
β-galactosidasa	Lactosa	4
Quimotripsina	Gly-Tyr-Gly	108
	N-benzoiltirosinamida	2,5

Tabla 1.4. Números turnover (kcat) de algunas enzimas

Enzima	Sustrato	N.º *turnover*
Catalasa	H_2O_2	40.000.000
Anhidrasa carbónica	HCO_3^-	400.000
Colinesterasa	Acetilcolina	140.000
Fumarasa	Fumarato	800
β-galactosidasa	Lactosa	208
Fosfoglucomutasa	Glucosa-6-fosfato	20,7
ATPasa	ATP	0,4

Inhibidores de la acción enzimática

El estudio de los inhibidores de la acción enzimática ha proporcionado importantes contribuciones al conocimiento de la especificidad de los sustratos enzimáticos, la naturaleza de los sitios activos en las enzimas, los mecanismos de la actividad enzimática, y las vías metabólicas y su control. Su aplicación farmacéutica es también relevante. Así, importantes inhibidores han sido analizados, como la aspirina, que inhibe la enzima prostaglandina sintetasa, evitando la formación de prostaglandinas, sustancias asociadas con el proceso inflamatorio. Esencialmente, los diferentes tipos de inhibición enzimática pueden ser divididos en dos grandes grupos: reversible e irreversible.

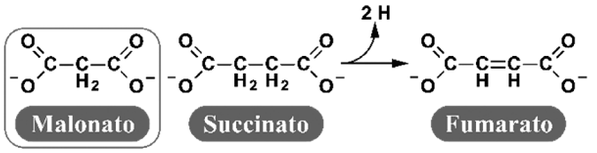
Inhibición reversible

Existen dos tipos de inhibición reversible: la competitiva y la no competitiva. En la inhibición reversible competitiva el inhibidor compite con el sustrato por el sitio activo de la enzima, debido a su similaridad estructural. Mientras el inhibidor esté ocupando el sitio activo, el sustrato no se puede unir a la enzima. La inhibición es revertida cuando suficiente cantidad del sustrato desplaza al inhibidor del sitio activo. Las reacciones pueden ser expresadas así:

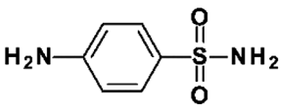
$$E + I \leftrightarrow EI$$
$$EI + S \leftrightarrow ES + I$$

El complexo enzima-inhibidor (EI) no genera ningún producto. El efecto del inhibidor competitivo sobre la cinética enzimática es el de disminuir la velocidad de la reacción y aumentar la constante de Michaelis. La V_{max} puede ser alcanzada después de que altas cantidades del sustrato desplacen la totalidad del inhibidor unido a la enzima.

Un ejemplo de inhibidor competitivo es el malonato, que inhibe la enzima succinato deshidrogenasa (enzima del ciclo de Krebs), por competir con su sustrato natural, el succinato, evitando la generación del producto normal, el fumarato. La reacción normal es mostrada abajo (la presencia de malonato inhibe la reacción):



Otro ejemplo de inhibición competitiva ocurre por la acción de las sulfas, cuyo efecto bacteriostático está basado en la inhibición de la enzima que tiene como sustrato el ácido p-aminobenzoico (PABA), evitando la síntesis de ácido fólico en las bacterias, el cual es esencial para su multiplicación. La semejanza estructural entre sustrato e inhibidor se evidencia al comparar las estructuras del PABA (**Figura 1.15**) con la sulfanilamida, abajo:



En la intoxicación por metanol este compuesto debe ser oxidado por acción de la enzima alcohol deshidrogenasa, con formación de formaldehído, que causa daño al nervio óptico, provocando ceguera. En esos casos es usado etanol para competir con el

metanol, favoreciendo la formación de acetaldehído, el cual es excretado por la orina, inhibiendo la formación de formaldehído.

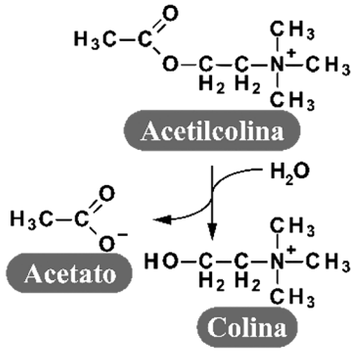
En la inhibición reversible no competitiva el inhibidor se une a un sitio diferente del sitio activo de la enzima, afectando también su actividad a pesar de no existir similaridad estructural entre sustrato e inhibidor. La unión del inhibidor a la enzima induce un cambio conformacional en la enzima, reduciendo la tasa de formación del complejo enzima-sustrato (ES) y/o reduciendo la tasa de degradación de ES para formar el producto. El inhibidor no bloquea la unión del sustrato con la enzima, pero el complejo ES no forma ningún producto mientras el inhibidor esté unido a la enzima. La inhibición, entonces, no puede ser revertida con aumento de la concentración del sustrato. El inhibidor puede unirse a la enzima libre o al complejo ES:

$$E + I \leftrightarrow EI$$
$$EI + S \leftrightarrow ESI \text{ o } ES + I \leftrightarrow ESI$$

Inhibidores que se unen solamente al complexo ES son definidos como acompetitivos. La V_{max} no es alcanzada aún con el aumento en la concentración de sustrato. La afinidad de la enzima por su sustrato no varía, pues el sitio activo está libre y, por tanto, no se altera el valor de la K_M. En las condiciones intracelulares este tipo de inhibición es utilizado por ciertos moduladores de la acción enzimática, que se unen a las enzimas controladoras de diferentes vías metabólicas. Estos moduladores alostéricos se unen al sitio alostérico de la enzima, sitio este diferente del activo. Como ejemplo puede citarse la inhibición de la treonina deshidratasa por la isoleucina, que se une a la enzima de forma reversible. La modulación depende del estado metabólico de la célula; en este caso, de la necesidad de metabolizar la treonina.

Inhibición irreversible

Ocurre con aquellos compuestos que se unen irreversiblemente a grupos funcionales del sitio activo de la enzima, en ocasiones mediante enlaces covalentes, formando complejos inactivos. Como ejemplo de este tipo de inhibición están los compuestos organofosforados, los cuales son frecuentemente usados en los animales domésticos como antiparasitarios. Estos compuestos, inicialmente derivados del diisopropil-fluorofosfato, inhiben la enzima colinesterasa, que cataliza la siguiente reacción:



La acetilcolina es un neurotransmisor en los animales superiores e insectos, siendo la colinesterasa la enzima encargada de su hidrólisis, controlando, así, la transmisión de los impulsos nerviosos. Los compuestos organofosforados se unen de forma irreversible a residuos de serina en el sitio activo de la colinesterasa, mediante ésteres fosfóricos, impidiendo su acción catabólica y causando parálisis. Los compuestos organofosforados actúan también como inhibidores sobre otras enzimas que poseen residuos de serina en su sitio activo, como la tripsina, la quimotripsina, la elastasa y la fosfoglucomutasa. Mediante este inhibidor fue descubierto que la serina formaba parte del sitio activo de esas enzimas. En los inhibidores irreversibles no se aplica la cinética de Michaelis-Menten, ya que la reacción no es reversible:

$$E + I \rightarrow EI$$

Otros inhibidores irreversibles son los agentes alquilantes yodoacetato ($I\text{-}CH_2\text{-}COO^-$) y yodacetamida ($I\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH_2$), que se unen a grupos sulfhidrilo (-SH) presentes en los sitios activos de algunas enzimas, alquilándolas e inhibiéndolas de forma irreversible ($enzima\text{-}S\text{-}CH_2\text{-}COO^-$). Existen algunos inhibidores irreversibles que son sustancias que inicialmente reaccionan con la enzima, pero cuyo producto de reacción es un inhibidor que se une irreversiblemente a la misma enzima. Reciben el nombre de inhibidores 'suicidas'.

Regulación enzimática

Las enzimas reguladoras son aquellas enzimas que controlan vías metabólicas, encontrándose generalmente al inicio de las rutas metabólicas. El efecto regulador

o modulador puede ser ejercido mediante unión no covalente de moduladores (en el caso de las enzimas alostéricas), o por modificación covalente de la enzima.

Enzimas alostéricas

Comúnmente estas enzimas son inhibidas por el producto final de la vía metabólica, evento conocido como inhibición por *feedback*. El metabolito inhibidor (modulador negativo) se une reversiblemente a un sitio diferente del sitio activo de la enzima: es el sitio regulador o alostérico (del griego *alos*, 'otro', y *stereos*, 'sitio'). Este sitio es específico en cada enzima alostérica para el respectivo modulador. En general, las enzimas alostéricas son grandes y complejas, con varias subunidades, y no obedecen a la cinética de Michaelis-Menten. La cinética de estas enzimas muestra un patrón de tipo sigmoidal, en vez de hiperbólico típico (**Figura 1.5**). Pueden también existir moduladores positivos, esto es, metabolitos de la vía metabólica que aumentan la actividad de la enzima. Generalmente, tales moduladores son los propios sustratos de la enzima. En algunos casos la enzima puede tener simultáneamente dos sitios alostéricos: uno para un modulador positivo y otro para un modulador negativo. Si la enzima tiene el mismo sustrato de la reacción como modulador positivo (enzima alostérica homotrópica), tiene varios sitios activos y ocurre un aumento en la velocidad catalítica por cooperatividad positiva, o sea que la unión del sustrato al sitio activo favorece la unión de más moléculas del sustrato a los otros sitios activos. En enzimas cuyo modulador es diferente del sustrato de la reacción (enzimas alostéricas heterotrópicas), la velocidad catalítica puede aumentar o disminuir, según sea modulador positivo o negativo, respectivamente, mediante alteraciones en su K_M o su V_{max}.

Enzimas reguladas por modificación covalente

Estas enzimas por lo general son modificadas en su actividad catalítica mediante procesos reversibles de fosforilación (adición de un grupo fosfato en residuos de serina, tirosina, treonina o histidina), adenilación (adición de un AMP a un residuo de tirosina), uridilación (adición de un UMP en un residuo de tirosina), ADP-ribosilación (adición de ADP-ribosa a residuos de arginina, glutamina o cisteína), o metilación (adición de un grupo metilo a un residuo de glutámico). Son enzimas que contienen varias subunidades. La glicógeno fosforilasa, enzima que degrada el glicógeno en el hígado y el músculo, es activada por dos fosforilaciones en los grupos -OH de dos serinas (forma activa o fosforilasa a) e inactivada por la defosforilación (forma inactiva o fosforilasa b). Lo contrario ocurre con la glicógeno-sintetasa, enzima que forma glicógeno: es activada por defosforilación e inactivada por fosforilación. Ambas enzimas, a su vez, están controladas por hormonas que inducen los mecanismos de fosforilación o defosforilación (adrenalina, glucagón e insulina).

Otros tipos de regulación enzimática incluyen:

— Proteínas separadas que se unen a enzimas para inhibir o estimular su actividad, como la proteína inhibidora de la tripsina y la α1-antiproteinasa, que inhibe la elastasa.

— Clivaje proteolítica de ciertas enzimas con inducción de su actividad, como en la conversión de protrombina en trombina y en la activación de los zimógenos digestivos tripsinógeno y quimotripsinógeno.

Isoenzimas

Son diferentes formas moleculares de la misma enzima, que pueden estar presentes en el mismo individuo, en el mismo tejido o en la misma célula, aunque en un compartimiento diferente. Cada isoforma puede variar en su cinética, su regulación, en el cofactor que usa o en la distribución subcelular. Generalmente son muy similares en la secuencia de aminoácidos. Así, la lactato deshidrogenasa (LDH) tiene cinco isoenzimas, cada una con cuatro subunidades. Estas subunidades pueden ser del tipo A (M) y B (H), pudiendo haber isoenzimas de tipo A_4, A_3B, A_2B_2, AB_3 y B_4. En el músculo esquelético predominan las isoenzimas con mayor número de cadenas A, mientras que en el corazón predominan las que tienen cadenas B. La distribución de las isoenzimas de una misma enzima depende de diversos factores, tales como: (a) las características metabólicas del tejido, como en el caso de la glicógeno fosforilasa presente en el hígado o en el músculo, (b) diferente localización intracelular y el papel metabólico realizado, como en la isocitrato deshidrogenasa mitocondrial o citosólica, (c) la diferenciación del tejido, y (d) el control sobre las vías metabólicas, como ocurre con la glucoquinasa y la hexoquinasa en el hígado ante diferentes concentraciones de glucosa.

1.5 Cofactores enzimáticos

Los cofactores enzimáticos son componentes requeridos por algunas enzimas para su actividad catalítica. El cofactor es el componente no proteico de la acción enzimática, pudiendo ser ion metálico o molécula orgánica (coenzimas). Las enzimas que necesitan cofactores para ejercer su acción son llamadas holoenzimas, término que incluye el complejo catalítico enzima-cofactor. Estas enzimas, cuando se encuentran solas, son denominadas apoenzimas o apoproteínas.

Las enzimas que precisan de iones son llamadas metaloenzimas, y el ion puede actuar de varias formas: (a) como centro catalítico primario, en el sitio activo de la enzima; (b) como complejo de coordinación o grupo de unión entre el sustrato y la enzima; o (c) como estabilizador de la conformación de la enzima. Ejemplos de metaloenzimas y sus correspondientes iones son: anhidrasa carbónica (Zn^{2+}), fosfotransferasas (Mg^{2+} o Mn^{2+}), citocromos (Fe^{2+} o Fe^{3+}), citocromo oxidasa (Cu^{+}), piruvato quinasa (K^{+}, Mg^{2+}), ATPasa (Na^{+}, Mg^{2+}), ureasa (Ni^{2+}), dinitrogenasa (Mo) y glutatión peroxidasa (Se).

Las coenzimas son generalmente derivadas de alguna vitamina hidrosoluble, principalmente del complexo B. Normalmente actúan como transportadoras intermediarias de grupos funcionales, átomos o electrones. La coenzima incorporada a la estructura de la enzima recibe el nombre de grupo prostético. Entre las principales coenzimas se encuentran: (i) los nucleótidos piridínicos derivados de nicotinamida; (ii) los nucleótidos flavínicos derivados de riboflavina; (iii) la tiamina pirofosfato derivada de la vitamina B_1; (iv) la coenzima A derivada del ácido pantoténico; (v) el piridoxal-fosfato derivado de la vitamina B_6; (vi) la biocitina derivada de la biotina; (vii) la coenzima B_{12} (cobamamida) derivada de la cianocobalamina (vitamina B_{12}); y (viii) la lipoil-lisina derivada del ácido lipoico.

Nucleótidos piridínicos

Las formas coenzimáticas de los nucleótidos piridínicos son el NAD (nicotinamida-adenina-dinucleótido) y el NADP (nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato). Esos nucleótidos son derivados de la nicotinamida, amida del ácido nicotínico (niacina), una vitamina del complejo B (**Figura 1.6**).

En el sentido exacto de la palabra, la niacina no es una vitamina (esto es, compuesto esencial que precisa ser incorporado en la dieta), pues ella puede ser sintetizada en el organismo a partir de triptofano (Trp). Sin embargo, la conversión de Trp en niacina es relativamente ineficiente y solo ocurre después de que los requerimientos de Trp están cubiertos. Por otro lado, la biosíntesis de niacina necesita de tiamina, riboflavina y piridoxina. Así, en términos prácticos, tanto la niacina como el Trp son esenciales y precisan estar en la dieta. La deficiencia moderada de niacina causa pelagra en humanos, enfermedad caracterizada por tres Ds: dermatitis, diarrea y demencia. En el perro la deficiencia de niacina causa la enfermedad lengua negra, debido a la glositis. Las señales neurológicas de la deficiencia son debidas a la degeneración del sistema nervioso. La avitaminosis está asociada a dietas pobres en proteína, alcoholismo crónico y síndrome de mala absorción. La niacina se encuentra en las carnes, las leguminosas y los cereales.

Los nucleótidos NAD y NADP son llamados también nucleótidos de piridina, pues la nicotinamida es un derivado de la piridina. Estos nucleótidos actúan como coenzimas de muchas enzimas óxido-reductasas, las cuales actúan como receptoras de electrones de sustratos específicos. NAD^{+} y $NADP^{+}$ (formas oxidadas) sufren reducción reversible en su anillo nicotinamida debido a la oxidación de un sustrato que dona un par de átomos de H. El nucleótido oxidado recibe un ion hidruro (H^{-}), equivalente a un protón y dos electrones, y se transforma en NADH o NADPH (formas reducidas). Las formas reducidas, a su vez, pueden donar H para reducir otros compuestos y, así, volver a la forma oxidada. La unión del NAD a la enzima es débil (no covalente). El nucleótido se mueve a través de la superficie de una enzima a otra, actuando como un transportador de electrones entre un metabolito y otro. Existen aproximadamente 200 deshidrogenasas identificadas: las deshidrogenasas NAD-dependientes participan de la transferencia de electrones en procesos oxidativos (catabólicos), mientras las deshidrogenasas NADP-dependientes participan de la transferencia de electrones en procesos reductivos (biosintéticos o anabólicos). Los estados oxidado (NAD^{+}) y reducido (NADH) pueden ser diferenciados por espectrofotometría ultravioleta, pues el espectro de absorción del NADH presenta dos longitudes de onda de máxima absorción (260 y 340 nm), mientras que el NAD^{+} presenta absorción únicamente a 260 nm.

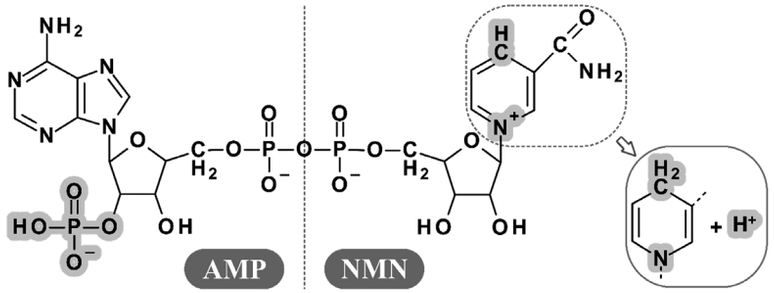


Figura 1.6. Estructuras de $NADP^+$, NAD^+, $NADPH+H^+$ y $NADH+H^+$

El grupo fosfato, presente exclusivamente en el $NADP^+$ (y en el $NADPH+H^+$), está resaltado en fondo gris, mientras que el grupo nicotinamida está circundado por línea punteada. En el detalle a la derecha se muestra la forma reducida del grupo nicotinamida presente en el $NADPH+H^+$ y en el $NADH+H^+$ (resaltadas en fondo gris las alteraciones entre las formas oxidadas y las reducidas). NADP, nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato; NAD, nicotinamida-adenina dinucleótido; AMP, adenosina monofosfato (o 2'-fosfo-adenosina monofosfato); NMN, nicotinamida mononucleótido.

Nucleótidos flavínicos

Las formas coenzimáticas de los nucleótidos flavínicos son el FAD (flavina-adenina-dinucleótido) y el FMN (flavina-mononucleótido). Ambas formas son derivadas de la riboflavina (vitamina B_2) (**Figura 1.7**). Señales características de la deficiencia de riboflavina incluyen glositis y dermatitis escamosa (especialmente en los dobleces nasolabiales y en el área escrotal). Esta vitamina es encontrada en la leche, la carne, los huevos y los cereales. La deficiencia severa está relacionada con subnutrición y alcoholismo crónico. Se puede decir que las coenzimas flavínicas no son nucleótidos verdaderos, pues en lugar de pentosa como azúcar, contienen ribitol. Los flavonucleótidos están unidos fuertemente a la enzima, actuando como grupo prostético (flavoproteína), pudiendo esta unión ser covalente, como en el caso de la succinato deshidrogenasa. Las formas oxidada (FAD y FMN) y reducida ($FADH_2$ y $FMNH_2$) pueden ser diferenciadas por espectrofotometría, pues la forma oxidada tiene dos puntos de máxima absorción, a 370 y a 450 nm, mientras que la forma reducida solamente tiene el pico de absorción a 450 nm. Las flavoenzimas actúan como oxido-reductasas en muchos procesos oxidativos, como del ácido pirúvico, de los ácidos grasos y de los aminoácidos, así como en la cadena de transporte electrónico.

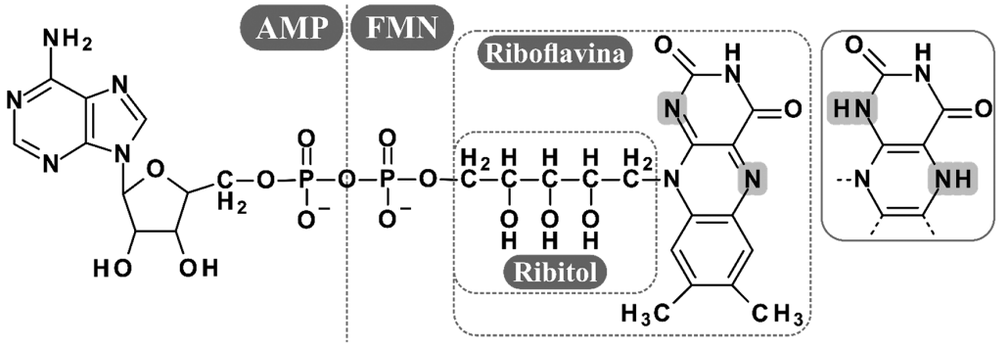


Figura 1.7. Estructuras del FAD y del FMN

Las estructuras de la riboflavina y del ribitol están circundadas por líneas punteadas. Los átomos de nitrógeno donde son introducidos los átomos de hidrógeno para generar las formas reducidas $FADH_2$ o $FMNH_2$ están resaltados en fondo gris. El detalle a la derecha muestra la estructura de la forma reducida. FAD, flavina-adenina dinucleótido; AMP, adenosina monofosfato; FMN, flavina mononucleótido.

Tiamina-pirofosfato (TPP)

También es conocida como tiamina difosfato (**Figura 1.8**). Es derivada de la tiamina (vitamina B_1). El grupo activo de la TPP es el tiazol, y necesita también de Mg^{2+} como cofactor. La TPP funciona como coenzima en dos tipos de reacciones: (a) en la descarboxilación-oxidación del piruvato, con su conversión en acetil-CoA, y del α-cetoglutarato en el ciclo de Krebs, formando succinil-CoA; y (b) en las reacciones de las transcetolasas, en la vía de las pentosas-fosfato.

Por otro lado, la TPP parece tener importante papel en la transmisión del impulso nervioso: la coenzima se localiza en las membranas periféricas de las neuronas, siendo requerida en la biosíntesis de acetilcolina y en las reacciones de translocación de iones en la estimulación nerviosa. El conocimiento de la acción bioquímica de la TPP no explica aún claramente todas las señales derivadas de la deficiencia de tiamina: pérdida de apetito, constipación, náusea, depresión, neuropatía periférica, irritabilidad y fatiga. Deficiencia de moderada a severa causa confusión mental, ataxia (andar tambaleante y disfunción motora) y oftalmoplejía (pérdida de la coordinación ocular). Deficiencia severa causa beriberi en humanos y polineuritis en aves, enfermedades caracterizadas por acumulación de fluidos (edema) en el sistema neuromuscular, dolor, atrofia y debilidad muscular, parálisis y muerte. También puede ocurrir falla cardíaca congestiva. La deficiencia de tiamina es observada en desnutrición avanzada, en alimentación exclusivamente a base de arroz pulido y en alcoholismo crónico. En aves es frecuente cuando ocurren tratamientos prolongados con amprolio, un compuesto anticoccidial, antagonista de la tiamina. El café y el té también contienen sustancias antitiamínicas, pero que no representan problema con consumos normales de esas bebidas.

Coenzima A (CoA)

La coenzima A es derivada del ácido pantoténico. Es un nucleótido de adenina que contiene β-mercaptoetilamina

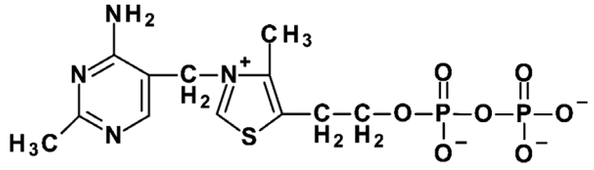
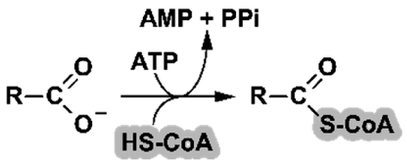


Figura 1.8. Estructura de la tiamina pirofosfato (TPP)

(**Figura 1.9**). El ácido pantoténico también es componente de la porción fosfopanteteína de la proteína transportadora de grupos acilo (ACP) que actúa en la biosíntesis de ácidos grasos. Por lo menos 70 enzimas utilizan la coenzima A o la ACP, siendo una coenzima importante en el metabolismo de lípidos, proteínas y en el ciclo de Krebs. Es difícil observar deficiencia de ácido pantoténico debido a su amplia distribución en los alimentos naturales. La coenzima A actúa como transportador de grupos acilo en reacciones de: (a) oxidación y biosíntesis de ácidos grasos; (b) oxidación del piruvato, y (c) acetilaciones (la letra A en el nombre de la coenzima es debido a su participación en reacciones de acetilación). El grupo activo de la coenzima A es el tiol (-SH), el cual es esterificado con un grupo acilo (R-COOH) generando un tioéster durante el transporte del grupo acilo:



Piridoxal-fosfato

Es la forma coenzimática de la vitamina B_6. Puede estar como piridoxamina, piridoxina, piridoxina-fosfato o piridoxal, siendo estas dos últimas las formas activas. En el organismo todas las formas son convertidas en piridoxal-fosfato, coenzima requerida para la biosíntesis, catabolismo e interconversión de los aminoácidos (**Figura 1.10**).

Son muchas las reacciones que dependen de la piridoxina. Entre los procesos más importantes con la participación de esta coenzima, pueden ser citadas: (a) reacciones de transaminación entre aspartato y oxalacetato, α-cetoglutarato y glutamato, y alanina y piruvato (**Figura 1.11**); (b) reacciones de la glicogenólisis, en las cuales la piridoxina es componente esencial de la glicógeno fosforilasa y se une a residuos de lisina, estabilizando la enzima; (c) biosíntesis de las aminas serotonina, noradrenalina e histamina; (d) formación de niacina a partir de triptofano; (e) biosíntesis del ácido δ-aminolevulínico (ALA), precursor del grupo hemo; (f) biosíntesis de esfingolípidos, componentes de la mielina.

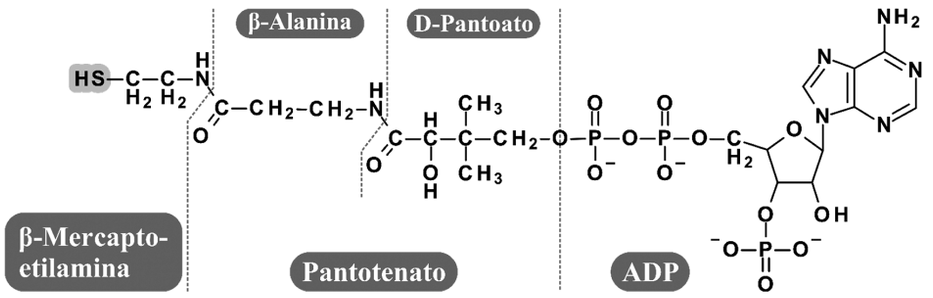


Figura 1.9. Estructura de la coenzima A

El grupo tiol (SH) activo está resaltado en fondo gris. ADP: adenosina difosfato.

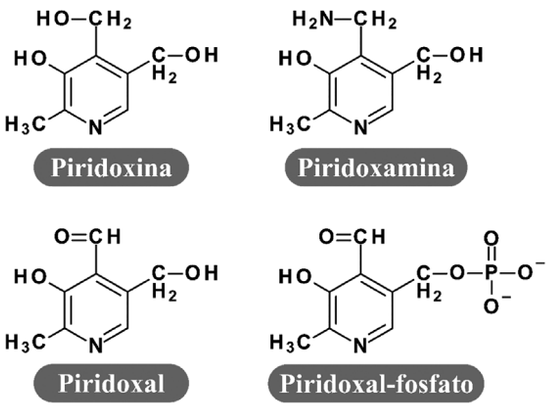


Figura 1.10. Estructura de las diferentes formas de la vitamina B_6 y del piridoxal-fosfato

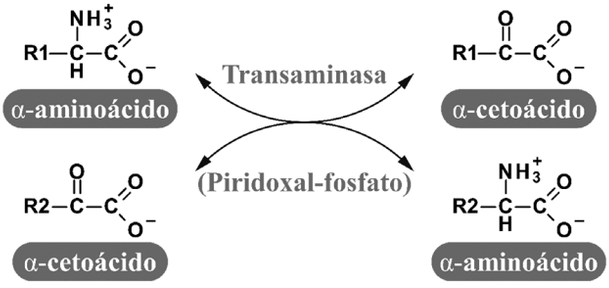


Figura 1.11. Reacción genérica de transaminación

La deficiencia moderada de piridoxina puede causar irritabilidad, nerviosismo y depresión, así como anemia sideroblástica (por deficiencia de hemoglobina), caracterizada por anemia microcítica con alta concentración sérica de hierro. Una deficiencia más severa causa neuropatía y convulsiones. Fuentes de piridoxina pueden ser encontradas en las carnes, verduras, cereales, y en la yema de huevo. La gestación y la lactación aumentan los requerimientos de piridoxina en por lo menos 30%. Algunas drogas (isoniazida usada en la tuberculosis y penicilamina usada en la artritis reumatoide) se unen a las formas coenzimáticas de la piridoxina inhibiendo las enzimas correspondientes.

Coenzima B_{12} (cobamamida)

La cianocobalamina (vitamina B_{12}) está caracterizada por tener en su molécula un átomo de cobalto, microelemento esencial, en estado coordinado seis. La porción orgánica de la cianocobalamina es un complejo formado por un anillo corrina, similar al anillo porfirínico del grupo hemo, al cual está unido un nucleótido (dimetil-benzimidazol ribonucleótido) y un grupo cianuro (CN^-) que está unido al cobalto. En la coenzima B_{12} (cobamamida) el grupo cianuro es sustituido por un grupo 5'-desoxiadenosil (**Figura 1.12**), el cual se une al Co mediante un ATP, debido a la hidrólisis de todo su grupo trifosfatado. Solamente existen dos casos de ese tipo de hidrólisis: en la formación de la coenzima B_{12} y en la formación de S-adenosilmetionina. La unión del grupo adenosil al Co es débil y fotolábil, lo que explica el hecho de que las plantas no lo contienen. La vitamina B_{12} está presente en los alimentos de origen animal, siendo también producida por algunas bacterias del tracto gastrointestinal. La cianocobalamina está unida a una proteína y para ser utilizada debe ser hidrolizada por el ácido del jugo gástrico, donde se combina con una glicoproteína secretada por el estómago, llamada factor intrínseco (el factor 'extrínseco' es la cobalamina). Esa proteína transporta la cianocobalamina hasta el íleon, donde es absorbida. La deficiencia de cianocobalamina provoca dos tipos principales de señales clínicas: hematopoyético y neurológico.

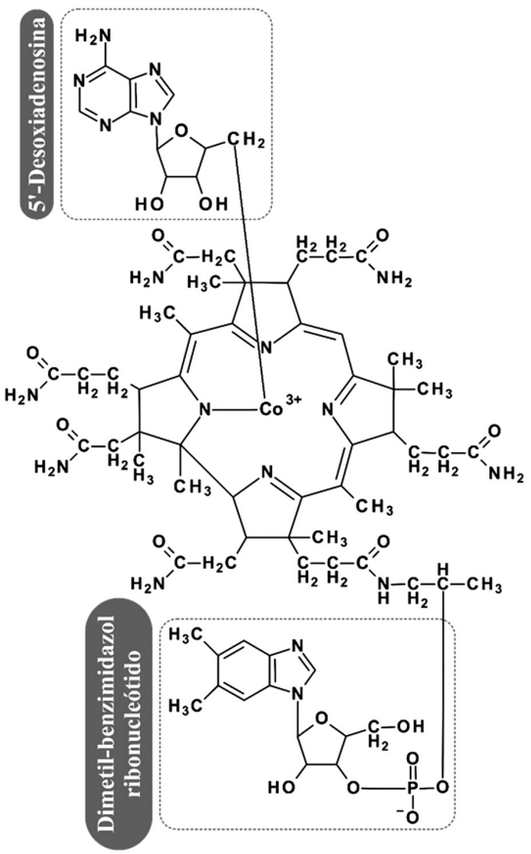
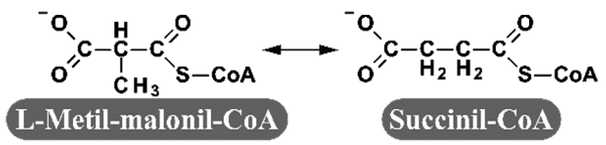


Figura 1.12. Estructura de la coenzima B_{12} (cobamamida)

Las reacciones en que participa la coenzima B_{12} tornan relativamente fácil la explicación sobre los mecanismos de la deficiencia de cianocobalamina. El derivado 5'-desoxiadenosil es requerido en la reacción de la enzima metilmalonil-CoA mutasa:



En esta reacción el grupo -CO-S-CoA del C2 del metil-malonil es transferido al C3, siendo cambiado por un H que estaba en este último. Dicha reacción hace parte del metabolismo de los ácidos grasos y de algunos aminoácidos. En los animales rumiantes es una reacción indispensable para la conversión del propionato (proveniente del metabolismo de los carbohidratos en el rumen) hasta succinil-CoA, fuente de glucosa (ruta de la gliconeogénesis). El derivado metilo de la coenzima B_{12} es requerido en la conversión de homocisteína en metionina. La deficiencia de vitamina B_{12} provoca anemia perniciosa, una anemia megaloblástica asociada con deterioración neurológica. La anemia es debida al efecto de la B_{12} sobre el metabolismo del folato, en el cual ella participa de la formación de tetrahidro-folato (**Figura 1.13**).

En la deficiencia de B_{12} ocurre deficiencia de derivados de H_4folato (**Figura 1.15**), necesarios para la síntesis de purinas y dTMP (por tanto de DNA). El deterioro neurológico se debe a la desmielinización progresiva del tejido nervioso. En la deficiencia de B_{12} ocurre interferencia con la formación de mielina debido a la acumulación de metil-malonil, el cual es inhibidor competitivo del malonil-CoA, intermediario en la síntesis de ácidos grasos, interfiriendo, por tanto, en la síntesis de esfingomielina. El metil-malonil puede también sustituir el malonil en la síntesis residual de ácidos grasos, causando la producción de ácidos grasos ramificados, los cuales afectan la estructura normal de las membranas nerviosas. En los rumiantes es difícil encontrar esta deficiencia debido a su producción por los microorganismos del rumen a menos que la dieta sea deficiente en cobalto. La vitamina B_{12} está distribuida ampliamente en los alimentos, especialmente en las carnes. Las reservas de B_{12} en el hígado pueden durar hasta seis años. Las deficiencias son raras y están relacionadas con fallas en la secreción de HCl gástrico y del factor intrínseco, con el síndrome de mala absorción o con dietas vegetarianas de larga duración.

Biotina

Constituye el grupo prostético de varias enzimas que participan en reacciones de carboxilación (**Figura 1.14**). Las más importantes de esas enzimas son la piruvato carboxilasa (que cataliza la conversión del piruvato en oxalacetato), participando en la vía de la gliconeogénesis, y la acetil-CoA carboxilasa (que cataliza la conversión del acetil-CoA en malonil-CoA), participando en la biosíntesis de ácidos grasos. La biotina se encuentra en el maní, el chocolate y los huevos, siendo también sintetizada por las bacterias intestinales. La deficiencia de biotina puede ser observada en tratamientos prolongados con antibióticos vía oral o en consumo excesivo de huevos crudos, los cuales contienen la avidina, una proteína presente en la clara, que se une a la biotina e impide su absorción.

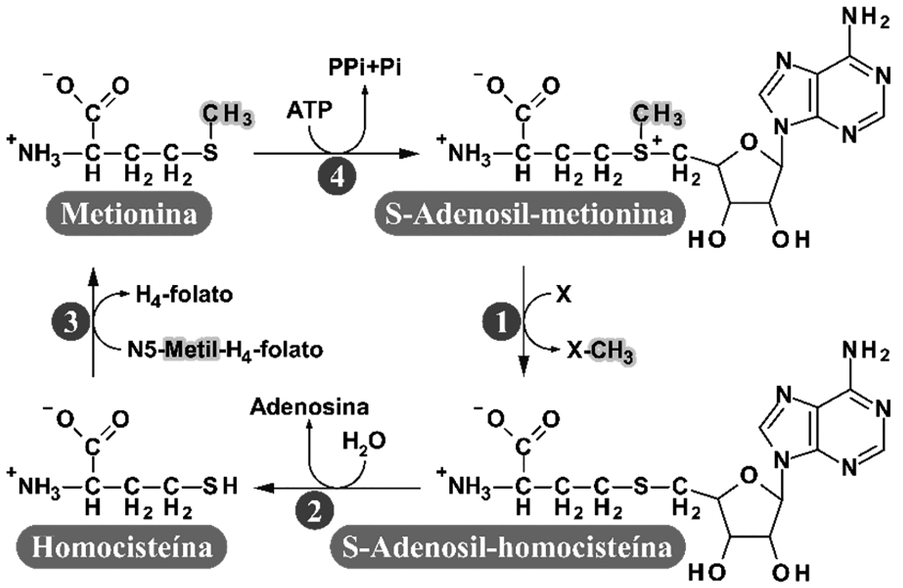


Figura 1.13. S-adenosil-metionina como donante de grupos metil.

Después de la transferencia del grupo metil de la S-adenosil-metionina (para un sustrato X), la S-adenosil-homocisteína resultante es hidrolizada, liberando adenosina y homocisteína. Esta última es nuevamente metilada a las costas del N5-metil-H_4-folato (Figura 1.15) para formar metionina. Las enzimas participantes son: [1] metilasa dependiente de S-adenosil-metionina; [2] S-adenosil-homocisteína hidrolasa; [3] metionina sintetasa y [4] metionina adenosil transferasa.

Ácido fólico (Folacina)

Esta vitamina está involucrada con los procesos de la hematopoyesis. Está ampliamente distribuida en los alimentos, especialmente en las carnes. Posee de uno a siete residuos de glutamato en su estructura (**Figura 1.15**). Después de ser absorbido en el intestino, el ácido fólico es reducido a tetra-hidrofolato (H_4folato) en los lisosomas, por la enzima H_2folato-reductasa. En circulación, la vitamina se encuentra como N5-metil-H_4folato. Dentro de las células el H_4folato aparece en la forma poliglutámica, que es biológicamente más potente, siendo, de esa forma, almacenado en el hígado.

El H_4folato participa de reacciones biosintéticas como cargador de unidades de un carbono. Así, participa en la biosíntesis de colina, serina, glicina, metionina, purinas y dTMP. Las dos últimas son las reacciones más significativas, pues tanto purinas como dTMP deben ser sintetizados, mientras que los otros compuestos pueden ser suministrados por la dieta. Por tanto, el efecto más notorio de la deficiencia de H_4folato es la inhibición de la síntesis de DNA, debido a la baja disponibilidad de purinas y de dTMP. Eso lleva a la detención de la multiplicación de las células en la fase S del ciclo celular, lo que provoca un característico cambio megaloblástico en la forma y el tamaño de las células de división rápida. Se observa también reducción en la maduración de los eritrocitos con aumento de su tamaño y mayor fragilidad de las membranas, provocando anemia macrocítica, típica de la deficiencia de folato. La deficiencia de folato, aunque difícil de ocurrir en animales, puede ser causada por ingestión o absorción inadecuadas, o por aumento en la demanda (gestación y lactación).

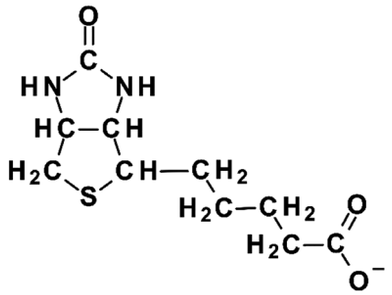


Figura 1.14. Estructura de la biotina

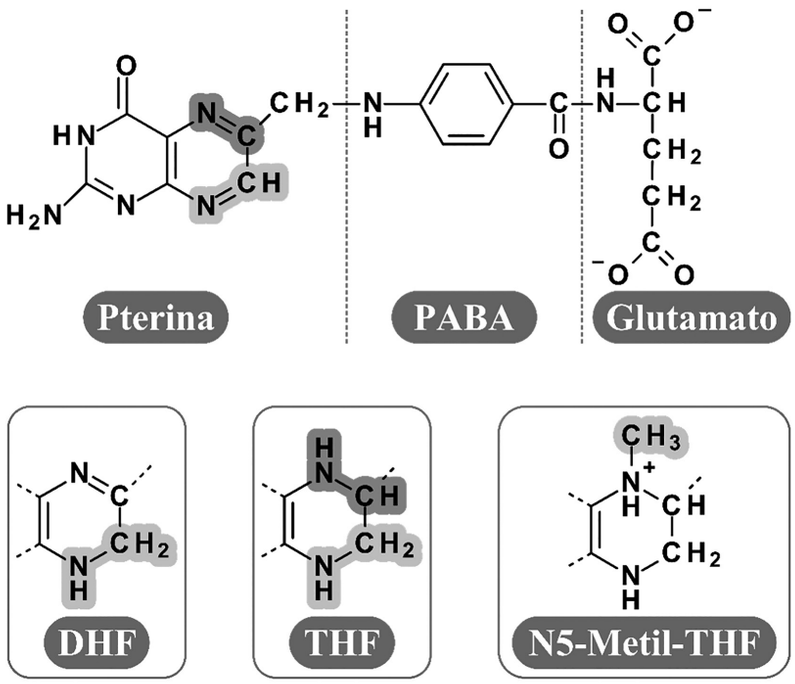


Figura 1.15. Estructura del folato y derivados

Los átomos de carbono y nitrógeno del folato donde son introducidos los dos átomos de hidrógeno para formar dihidrofolato (DHF) están resaltados en fondo gris claro. Dos átomos de hidrógeno adicionales son introducidos en átomos de carbono y nitrógeno (resaltados en fondo gris oscuro) para la formación del tetrahidrofolato (THF). Partes relevantes de las moléculas de DHF y THF son mostradas en los detalles, así como el grupo metilo adicional presente en el N5-metiltetrahidrofolato. PABA, ácido paraaminobenzoico.

1.6 Bibliografía

Ackerson, B. J. (1993). Entropy. When order is disordered. *Nature, 365*, 11-12.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K. & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci, 90*, 7915-7922.

Atkins, P. W. (1984). *The Second Law*. New York, USA: Scientific American Books.

Babcock, G. T. & Wickström, M. (1992). Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. *Nature, 356*, 301-309.

Boyer, P. D. (1987). The unusual enzymology of ATP synthase. *J. Biochem, 26*, 8503-8507.

Fesus, L. (1993). Biochemical events in naturally occurring forms of cell death. *FEBS Letters*, *328*, 1-5.

Godvinje, J. & Coleman, W. J. (1990). How plants make oxygen. *Sci. Am. 262*, 50-58.

Hansen, D. E. & Raines, R. T. (1990). Binding energy and enzymatic catalysis. *J. Chem*. *Educ., 67*, 483-489.

Hanson, R. W. (1989). The role of ATP in metabolism. *J. Biochem. Educ., 17*, 86-92.

Hinckle, P. C. & McCarty, R. E. (1978). How cells make ATP. *Sci. Am., 238*, 104-123.

Kaufman, B. T. (1993). Why NADP? Trends Biochem. *Science, 18*, 278-279.

Kraut, J. (1988). How do enzymes work? *Science, 242*, 533-540.

Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2000). *Lehninger principles of biochemistry*. 3.ª ed. New York, USA: Worth Publishers.

Pedersen, P. L. & Carafoli, E. (1987). Ion motive ATPases. I. Ubiquity, properties and significance to cell function. *Trends Biochem. Sci., 12*, 145-150.

Pedersen, P. L. & Carafoli, E. (1987). Ion motive ATPases. II. Energy coupling and work output. *Trends Biochem. Sci., 12*, 186-189.

Racker, E. (1980). From Pasteur to Mitchell: a hundred years of bioenergetics. *Fed*. *Proc., 36*, 210-215.

Semenza, G. (2003). *A history of biochemistry*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.

Senior, A. E. (1988). ATP synthesis by oxidative phosphorilation. *Physiol. Rev., 68*, 177-231.

Siegenthaler, V. & Sarmiento, J. L. (1993). Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature, 365*, 119-125.

Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem., 215*, 213-220.

Skulachev, V. P. (1992). The laws of cell energetics. *Eur. J. Biochem., 208*, 203-209.

Westheimer, F. H. (1987). Why nature chose phosphates. *Science, 235*, 1173-1178.

Williams, R. J. (1993). Are enzymes mechanical devices? *Trends Biochem. Sci., 18*, 115-116.

Capítulo 2
Alteraciones del equilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico

2.1 El agua en los organismos animales

El agua es la sustancia más abundante en los seres vivos, y compone del 60 % al 75 % del peso corporal. En los animales domésticos adultos este valor está próximo de 60 %, mientras que en los neonatos es el 75 %. Todas las reacciones químicas del organismo son realizadas en medio acuoso y el equilibrio de tales reacciones depende de la concentración de los productos de ionización del agua, esto es, de los iones H^+ y OH^-. El agua en los animales está localizada en dos compartimientos: (a) compartimiento intracelular, que contiene 55 % a 60 % del total de agua del organismo; y (b) compartimiento extracelular, que contiene 40 % a 45 % del total de agua. El agua ingresa en el organismo a través de los alimentos y del agua bebida, y es eliminada por cuatro vías: piel, pulmones, riñones e intestino. A pesar de las variaciones en el consumo y en la pérdida de agua y de electrolitos en el organismo, sus concentraciones, en los diferentes compartimientos, se mantiene de forma relativamente constante. El volumen de agua en el compartimiento extracelular en un animal adulto corresponde, dependiendo de la especie, a 15 %-30 % de su peso corporal. El fluido extracelular incluye (a) plasma, (b) fluido intersticial, (c) linfa y (d) fluidos transcelulares. Entre estos últimos está el fluido gastrointestinal, que tiene especial importancia en grandes animales, alcanzando en equinos 30-45 L y en bovinos 30-60 L.

Propiedades fisicoquímicas del agua

A pesar del pequeño tamaño de la molécula, el agua tiene altos valores en los puntos de fusión (0 ºC) y de ebullición (100 ºC). El calor de vaporización, definido como la energía calórica necesaria para convertir 1 g de agua en vapor bajo condiciones de temperatura de ebullición y presión atmosférica, tiene también un valor relativamente alto en el agua (2,26 kJ/g). El agua también tiene alto calor específico (energía calórica necesaria para aumentar la temperatura de 1 g de agua en 1 ºC) cuando se compara con moléculas de peso molecular similar. Las características anteriores revelan que la molécula de agua posee una gran fuerza de atracción entre sus moléculas. Eso es debido al carácter dipolar de su estructura, donde los átomos de hidrógeno comparten un par electrónico con el átomo de oxígeno, y los pares de electrones del oxígeno no compartidos generan una carga parcial negativa (δ^-). A su vez, la fuerza de atracción electrónica del átomo de oxígeno, elemento más electronegativo (electronegatividad = 3,5) que el hidrógeno (electronegatividad = 2,1), origina una carga parcial positiva (δ^+) sobre los átomos de hidrógeno, resultando en una molécula dipolar, aunque eléctricamente neutra.

El carácter dipolar hace que una molécula de agua pueda realizar puentes de hidrógeno hasta con otras cuatro moléculas de agua. Se considera que, en estado líquido, cada molécula de agua se une mediante puentes de hidrógeno a tres moléculas vecinas, mientras que en estado sólido lo hace con cuatro (**Figura 2.1A**). El gran número de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua causa gran cohesión entre ellas, aunque el agua sea bastante fluida, debido a la vida media corta de tales enlaces (10^{-9} s). La energía del puente de hidrógeno, definida en términos de la energía necesaria para romper un enlace, es bastante menor (20 kJ/mol) que la del enlace covalente (460 kJ/mol).

El agua es un líquido polar por su tendencia a atraer electrostáticamente otras moléculas. Ella puede realizar puentes de hidrógeno con otros átomos electronegativos, tales como oxígeno y nitrógeno. Los puentes de hidrógeno también pueden ser formados entre moléculas diferentes del agua: hidrógeno unido con oxígeno o con nitrógeno, pero no con carbono, puede formar puentes con nitrógeno u oxígeno (**Figura 2.1B**). Debido a sus características polares el agua puede disolver: (a) sales cristalinos (como, por ejemplo, NaCl) al interactuar con los iones que unen los átomos de sal entre sí (**Figura 2.1C**); (b) compuestos orgánicos

polares (azúcares, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos) debido a la formación de puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo o carbonilo; (c) sustancias anfipáticas (fosfolípidos, proteínas, ácidos nucleicos), con las cuales el agua forma micelas, interactuando con la porción hidrofílica y repeliendo la porción hidrofóbica.

Las propiedades coligativas del agua, o sea, los puntos de congelamiento y ebullición, la presión de vapor y la presión osmótica, pueden ser modificadas por la interacción de algunos solutos disueltos en el agua. Los solutos tienden a romper la estructura normal del agua, es decir, sus puentes de hidrógeno, lo cual disminuye el número y la fuerza de esas uniones, causa menor interacción entre las moléculas de agua y cambian así sus propiedades. Esa modificación puede ser favorable para algunos organismos animales, al impedir el congelamiento de la sangre de los peces que habitan aguas con temperaturas por debajo del punto de congelamiento, ya que la concentración de los solutos presentes en la sangre disminuye la temperatura de fusión del agua. Por otro lado, la presencia en la sangre de proteínas, las cuales son sustancias que no pueden atravesar los capilares, da mayor presión osmótica al plasma dentro de los capilares que al fluido extracelular, haciendo que el agua fluya al interior de los capilares.

Los productos de ionización del agua

El agua tiene leve tendencia a ionizarse de forma reversible, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$H_2O \leftrightarrow H^+ + OH^-$$

A 25 ºC, solamente una pequeña proporción de las moléculas de agua están ionizadas, pero a pesar de ello los productos de ionización (H^+ y OH^-) tienen un profundo efecto biológico. Cuantitativamente, el grado de ionización del agua puede ser expresado mediante la constante de equilibrio de la reacción (K_{eq}):

$$K_{eq} = \frac{[H^+] \times [OH^-]}{[H_2O]}$$

La concentración de H_2O es alta, comparada con los productos [H^+] y [OH^-]. Como la densidad del agua es de 1 g/mL, en 1 L habrá 1.000 g o 55,5 moles de agua (peso molecular del agua = 18 g). Esto significa que la concentración molar del agua es de 55,5 M, concentración esta que puede ser considerada estable debido a su poca ionización. También es conocido, por mediciones de conductividad eléctrica, que el valor de la constante de equilibrio (K_{eq}) es de $1{,}8 \times 10^{-16}$ M a 25 ºC. Entonces, reemplazando en la ecuación de la constante K_{eq}, tendremos:

$$1{,}88 \times 10^{-16} = \frac{[H^+] \times [OH^-]}{55{,}5}$$

Ordenando, se obtiene el producto de ionización del agua:

$$[H^+]\,[OH^-] = 1 \times 10^{-14}\ M^2$$

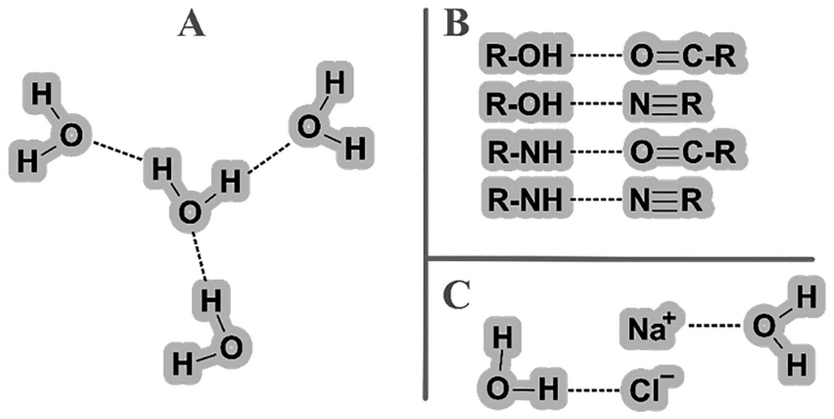


Figura 2.1. Interacciones por puentes de hidrógeno

A: interacción entre moléculas de agua, B: interacción entre moléculas orgánicas, C: interacción entre moléculas de agua e iones. Los puentes de hidrógeno están representados por líneas punteadas. R: grupo radical de la molécula orgánica.

Cuando las concentraciones de H^+ y OH^- son iguales, como ocurre con el agua neutra, la concentración de H^+ es de 1×10^{-7} M. Si la concentración de H^+ aumenta, la concentración de OH^- disminuye, y viceversa. De esa forma, el producto de ionización siempre será 1×10^{-14}. En el caso, por ejemplo, de una solución de NaOH 0,1 N, sabiendo que $[H^+]$ $[OH^-] = 1 \times 10^{-14}$, la concentración de $[H^+]$ será:

$[H^+] = 1 \times 10^{-14}/1 \times 10^{-1}$
$[H^+] = 1 \times 10^{-13}$ M

Para designar la concentración de H^+ en términos más prácticos se usa la escala de pH, para soluciones entre 1,0 M de H^+ y 1,0 M de OH^-. La escala de pH fue propuesta por el químico dinamarqués S. P. L. Sørensen, con base en la siguiente ecuación:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} \quad o \quad pH = -\log[H^+]$$

Los valores de concentración de H^+ y OH^- derivados de la ionización del agua explican por qué la escala de pH va de 0 a 14. Así, el valor del pH para una solución neutra es:

$pH = \log [1/(1 \times 10^{-7})]$
$pH = \log (1 \times 10^{7})$
$pH = \log 1 + 7\log 10$
$pH = 7$

Y el pH de una solución de HCl 1,0 M es:

$pH = \log 1/1$
$pH = \log 1$
$pH = 0$

2.2 Ácidos y bases

De acuerdo con el concepto de Brönsted-Lowry, los ácidos pueden ser definidos como aquellas sustancias que donan protones (H^+), mientras que las bases son aquellas sustancias que aceptan protones. En una reacción de donación de protones (ionización) siempre hay un par ácido-base conjugado, o sea que para cada domador de protones hay siempre un receptor de protones. La capacidad de donación de los protones está determinada por el grado de ionización del ácido en una solución acuosa. La ionización es alta en los ácidos fuertes, como HCl, H_2SO_4 y HNO_3, mientras que es baja en los ácidos débiles, como en los ácidos orgánicos acético, propiónico y láctico. Tomando como ejemplo el ácido acético, la reacción está compuesta por el ácido donador de H^+ y por el acetato, base conjugada receptora de H^+, en una reacción reversible:

$$CH_3COOH \leftrightarrow CH_3COO^- + H^+$$

La fuerza de ionización o disociación de un ácido se expresa mediante la constante de disociación (K_a). Por ejemplo, en la reacción general: $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$, la constante de disociación es:

$$K_a = \frac{[H^+] \times [A^-]}{[HA]}$$

Los ácidos fuertes tienen mayor K_a que los ácidos débiles porque su fuerza de disociación es mayor (mayor numerador). Otra forma de expresar la fuerza de disociación es mediante el pK_a, el cual está definido por la ecuación:

$$pK_a = \log \frac{1}{K_a} \quad o \quad pK_a = -\log K_a$$

En la **Tabla 2.1** se muestran las constantes de disociación y el valor del pK_a de algunos ácidos de amplio uso en bioquímica. Mientras menor sea el valor del pK_a, mayor es la fuerza de ionización del ácido (mayor K_a) y, por tanto, más fuerte es el ácido. Al contrario, un mayor valor de pK_a (por tanto, menor valor de K_a) se observa en un ácido débil. Existe relación entre el pK_a y el pH, de forma que el valor de pK_a puede ser definido como aquel valor de pH en el cual 50 % del ácido se encuentra disociado.

2.3 Soluciones *buffer*

Si a un ácido débil en solución acuosa se adiciona una cantidad equivalente de base, como por ejemplo NaOH, el comportamiento de la solución en términos de pH determina la curva de titulación. A medida que aumenta el pH con la adición de OH^-, el ácido pasará por diferentes estados de ionización. Tomando como ejemplo el ácido acético (**Figura 2.2**), pasará desde CH_3COOH, en pH ácido, hasta CH_3COO^- en pH alcalino. Cuando el pH es igual al pK_a, o sea, aquel pH en el cual están disociados 50 % de CH_3COOH (pH 4,76 en este caso), la relación ácido/base es igual a 1:

$$\frac{CH_3COOH}{CH_3COO^-} = 1$$

Tabla 2.1 Constantes de disociación (Ka) y de pKa de algunos ácidos y bases a 25 °C (Carlson, 1997)

Ácido o base	Ka	pKa
Fosfórico	$7{,}25 \times 10^{-3}$	2,14
Fórmico	$1{,}78 \times 10^{-4}$	3,75
Carbónico	$1{,}70 \times 10^{-4}$	3,77
Láctico	$1{,}38 \times 10^{-4}$	3,86
Acético	$1{,}78 \times 10^{-5}$	4,76
Propiónico	$1{,}35 \times 10^{-5}$	4,87
Fosfato monobásico	$1{,}38 \times 10^{-7}$	6,86
Amonio	$5{,}62 \times 10^{-10}$	9,25
Bicarbonato	$6{,}31 \times 10^{-11}$	10,2
Fosfato dibásico	$3{,}98 \times 10^{-13}$	12,4

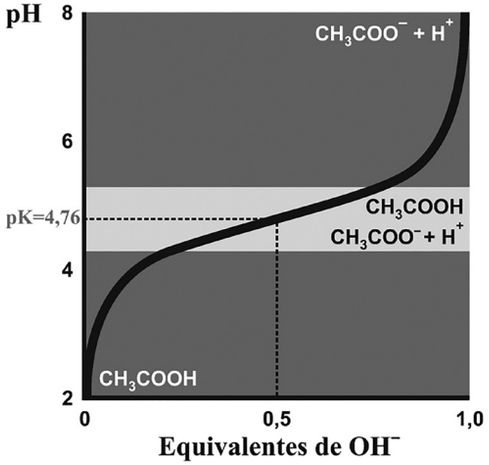


Figura 2.2. Curva de titulación del ácido acético

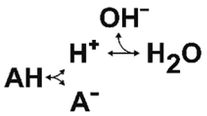
Las áreas gris-oscuras en el gráfico corresponden a las partes de la curva de titulación donde pequeñas variaciones en la concentración de OH^- (eje X) provocan grandes variaciones de pH (eje Y). La zona de tamponamiento corresponde a la parte de la curva de titulación donde grandes variaciones en la concentración de OH^- provocan pequeñas variaciones de pH (área gris-clara).

Cerca del valor del pK_a existe menor variación de los valores de pH, o sea, ocurre un efecto amortiguador o *buffer*, aunque estén ocurriendo cambios en la concentración de H^+ o de OH^-. Se acostumbra atribuir el término *buffer* a Sørensen. Sin embargo, es probable que los primeros en referir este concepto hayan sido los franceses A. Fernbach y L. Hubert, quienes usaron el término *tampon*, en 1900, para hacer analogía entre ese tipo de solución y el topo (*tampón*) de un tren, dispositivo metálico montado sobre resortes y colocado en pares al frente y atrás de los vagones a fin de amortiguar los choques. Años después Sørensen tradujo este término al alemán (*püffer*) y después al inglés (*buffer*) y, dado su prestigio internacional, la difusión de este último quedó garantizada.

Un sistema *buffer* está constituido por un ácido débil (donador de protones) y por su base conjugada (receptor de protones) en medio acuoso:

$$HA \leftrightarrow A^- + H^+$$

En el sistema *buffer*, si ocurre adición de OH^-, y considerando la disociación de HA, se forma agua. De la misma forma, si ocurre adición de H^+ al medio, la base (A^-) acepta los protones para formar de nuevo HA:



De esta forma, la adición de H^+ o de OH^- no afectará notoriamente el pH de la solución, principalmente en el intervalo donde la acción *buffer* es más eficiente, esto es, cuando el $pH = pK_a \pm 1$.

Una forma adicional de relacionar el pH de una solución que contenga un ácido débil, conociendo su pK_a, es mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch, la cual expresa la constante de disociación de otra forma. Partiendo de la ecuación de la constante de disociación:

$$K_a = \frac{[H^+] \times [A^-]}{[HA]}$$

Resolviendo $[H^+]$, tenemos:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Aplicando el inverso a todos los términos:

$$\frac{1}{[H^+]} = \frac{1}{K_a} \times \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Aplicando logaritmos a todos los términos:

$$\log \frac{1}{[H^+]} = \log \frac{1}{K_a} + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Reemplazando los dos primeros términos de la ecuación por pH y pK_a, respectivamente, tenemos la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Considerando esta ecuación, se percibe cómo el valor del pK_a corresponde, numéricamente, al pH en el cual ocurre 50 % de la disociación del ácido, o sea, cuando [HA] = [A+], una vez que:

$$pH = pK_a + \log 1$$
$$pH = pK_a$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch también sirve para calcular: (a) pK_a de un ácido, conociendo el pH y la relación molar ácido-base; (b) pH de una solución, conocidos el pK_a del ácido y la relación molar; y (c) relación molar, conocidos el pK_a y el pH.

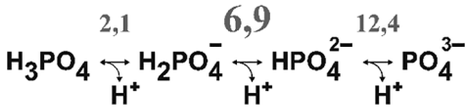
2.4 Sistemas buffer en los organismos animales

Los sistemas buffer reducen las variaciones del pH de soluciones en las que ocurren cambios en la concentración de ácidos o de bases. En el organismo animal el pH del medio puede afectar la interacción iónica entre las biomoléculas, debiendo, por tanto, tener mecanismos rigurosos de control. De especial importancia es la interacción iónica que puedan tener las proteínas, ya que su actividad puede ser afectada en función del pH, sobre todo cuando se trata de la acción catalítica de las enzimas, de la acción biológica de las hormonas o de los anticuerpos. El pH también puede afectar el equilibrio de las reacciones de óxido-reducción en las cuales hay transferencia de H entre las coenzimas.

El pH del plasma arterial mantiene valores estrechos de 7,35 a 7,45 habiendo un valor de pH compatible con la vida entre 6,8 y 7,8. El pH intracelular varía de acuerdo a la célula. En el eritrocito este valor es 7,2, mientras que en otras células es 7,0. Las células musculares constituyen una excepción, pues en ejercicio prolongado el pH puede caer a 6,0 debido a la acumulación de ácido láctico. Los fluidos del organismo mantienen constante su pH por la acción de varios tipos de control: primero, por los sistemas buffer, y complementariamente por eventos equilibradores a nivel pulmonar, mediante el intercambio gaseoso de O_2 y CO_2, y a nivel renal, a través de la excreción de H^+ y la reabsorción de HCO_3^-. En el fluido intracelular los buffer más relevantes son el fosfato y las proteínas. La actividad tamponante de estas últimas es debida a la presencia de grupos disociables contenidos en residuos de aminoácidos ácidos (glutámico, aspártico) y básicos (lisina, histidina). También colaboran algunos nucleótidos, como el ATP, que tienen grupos fosfatos disociables. En los fluidos extracelulares el sistema buffer más importante es el bicarbonato (**Figura 2.3**).

El sistema buffer fosfato

Considere las ecuaciones de disociación del ácido fosfórico con sus respectivos pKs:



Puede observarse que los valores de pK_a de la primera y de la última reacción de disociación indican que, por estar distantes del pH corporal normal, tanto el ácido fosfórico como el ion PO_4^{3-} no están presentes en cantidades apreciables en condiciones fisiológicas. Así, el sistema *buffer* fosfato opera con los fosfatos monobásico ($H_2PO_4^-$) y dibásico (HPO_4^{2-}), siendo el primero el correspondiente al ácido débil, y el segundo, la base conjugada del sistema. Ese sistema tiene un límite para su capacidad tamponante, determinado por el agotamiento de uno de los componentes. Siendo el pK_a

de este sistema 6,86, su actividad *buffer* más eficiente está localizada en soluciones de pH entre 6,1 y 7,7, la cual es adecuada para el pH intracelular (7,0-7,4). primera y de la última reacción de disociación indican que, por estar distantes del pH corporal normal, tanto el ácido fosfórico como el ion PO_4^{3-} no están presentes en cantidades apreciables en condiciones fisiológicas. Así, el sistema *buffer* fosfato opera con los fosfatos monobásico ($H_2PO_4^-$) y dibásico (HPO_4^{2-}), siendo el primero el correspondiente al ácido débil, y el segundo, la base conjugada del sistema. Ese sistema tiene un límite para su capacidad tamponante, determinado por el agotamiento de uno de los componentes. Siendo el pK_a de este sistema 6,86, su actividad *buffer* más eficiente está localizada en soluciones de pH entre 6,1 y 7,7, la cual es adecuada para el pH intracelular (7,0-7,4).

El sistema buffer bicarbonato

En el espacio extracelular funciona como buffer el sistema ácido carbónico/bicarbonato, de acuerdo a la ecuación:

$$H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$$

Este par ácido-base, de forma aislada (in vitro), tiene un pK_a de 3,7 que lo haría poco eficiente como buffer en las condiciones de pH de la sangre. Sin embargo, in vivo, este buffer tiene como importante característica que uno de sus componentes, el ácido carbónico (H_2CO_3) es formado a partir de CO_2 y H_2O, en una reacción enzimática reversible de la anhidrasa carbónica, que se encuentra prácticamente en todas las células del organismo:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$$

El CO_2 es un gas disuelto en la sangre que se intercambia en los pulmones con el aire que está en los alvéolos:

$$CO_2 \text{ (aire)} \leftrightarrow CO_2 \text{ (sangre)}$$

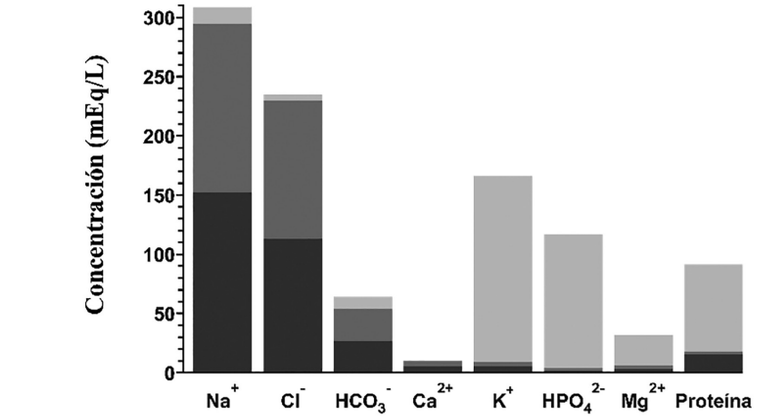
La nueva ecuación del sistema será entonces:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$$

Suprimiendo el H_2CO_3, que se disocia en fracciones de segundo, resulta la siguiente ecuación:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

Esa ecuación es más realista, ya que el equilibrio de la reacción $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$ está más inclinado a la izquierda, porque el valor de la relación H_2CO_3/CO_2 en la sangre es de 1:200. La proporción normal de HCO_3^-/CO_2 en la sangre es de 20:1. Como la



	Na^+	Cl^-	HCO_3^-	Ca^{2+}	K^+	HPO_4^{2-}	Mg^{2+}	Proteína
Fluido intracelular	14	5	10	0,005	157	113	26	74
Fluido intersticial	143	117	27	5	4	2	3	2
Plasma sanguíneo	152	113	27	5	5	2	3	16

Figura 2.3. Distribución y concentración de los principales componentes de los fluidos corporales

concentración de agua en el plasma es virtualmente constante, la reacción quedaría así:

$$CO_2 \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

La K_{eq} de esta ecuación corresponderá a:

$$K_{eq} = \frac{[H^+] \times [HCO_3^-]}{[CO_2]} = 7{,}95 \times 10^{-7}$$

De esa forma, el valor del pK para el sistema bicarbonato es modificado para 6,1, siendo más efectivo en el pH de 7,4, que es el valor que prevalece en el plasma sanguíneo de los mamíferos. El valor normal de la concentración de HCO_3^- en el plasma es de 20-24 mM, y el valor normal de pCO_2 está en torno de 40 mmHg. La conversión de la presión del gas (en mmHg) para concentración del gas disuelto (en mM) es realizada multiplicando por el factor 0,03. Así:

$$pCO_2 \text{ (mmHg)} \times 0{,}03 = [CO_2] \text{ (mM)}$$

Mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch aplicada para el sistema HCO_3^-/CO_2 puede calcularse el pH de la sangre:

$pH = 6{,}1 + \log \{[HCO_3^-]/pCO_2\}$
$pH = 6{,}1 + \log 24 - \log (0{,}03 \times 40)$
$pH = 6{,}1 + 1{,}38 - 0{,}079$
$pH = 7{,}4$

Así, en el sistema *buffer* bicarbonato podemos considerar como componente ácido el CO_2, el cual no es propiamente un ácido, sino un anhídrido ácido, mientras que el ion bicarbonato corresponde a la base conjugada.

Control respiratorio del buffer bicarbonato

Aunque el sistema HCO_3^-/CO_2 actúe como *buffer* en el intervalo de pH entre 5,1 y 7,1, conforme se deduce de su pK_a (6,1), es efectivo en una franja más amplia debido a la remoción del componente ácido (CO_2) en la respiración. En un sistema *buffer* típico ($HA \leftrightarrow H^+ + A^-$), cuando ocurre aumento de H^+, la reacción se desplaza a la izquierda, aumentando la [HA] y disminuyendo la $[A^-]$. Por tanto, la relación $[A^-]/[HA]$ disminuye. De acuerdo a la ecuación de Henderson-Hasselbalch, la disminución en esa relación causa disminución del pH (acidificación). No obstante, si la fracción [HA] está siendo constantemente removida, la relación $[A^-]/[HA]$ permanecerá estable, y el pH sufrirá menor alteración. Es lo que ocurre en el sistema HCO_3^-/CO_2, en el cual el CO_2 (equivalente a la fracción HA) es removido por la respiración. Por tanto, la relación HCO_3^-/CO_2 cambia poco y el pH es menos alterado. Esta remoción de una fracción del sistema significa que el sistema es abierto. La **Figura 2.4** muestra la interrelación entre el transporte de O_2 y CO_2 y el sistema *buffer* bicarbonato. Cuando ocurre adición de base (OH^-), esta es neutralizada por el ácido carbónico, el cual es convertido en bicarbonato. La concentración del bicarbonato es controlada por el riñón.

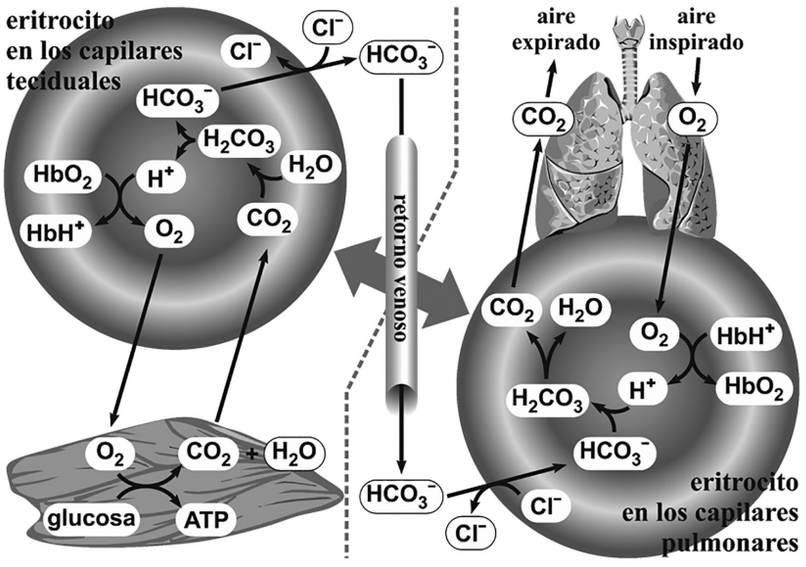


Figura 2.4. Interrelación entre el transporte de O_2 y CO_2 y el sistema *buffer* bicarbonato

El sistema HCO_3^-/CO_2 es complementado por otros sistemas. En el caso de un aumento de CO_2 (acidosis respiratoria), el exceso de H^+ producido es removido por el sistema de las proteínas o del fosfato. En ese caso, el HCO_3^- aumenta más que el H^+, pues este último es removido, favoreciendo el aumento de pH. Por otro lado, si ocurre una disminución de CO_2, la reacción compensatoria en el sentido $H^+ + HCO_3^- \rightarrow CO_2$ es favorecida por el aumento de H^+ suministrado con la disociación de los grupos H-proteínas y $H_2PO_4^-$.

El equilibrio del sistema bicarbonato no depende solamente de la concentración de HCO_3^-, sino también de la concentración de CO_2, la cual, a su vez, determina la concentración de H_2CO_3. La concentración plasmática de CO_2 depende de la frecuencia y la intensidad de la respiración, que es regulada por el sistema nervioso central, en el centro respiratorio y por otros centros de los grandes vasos (cuerpos aórticos y carotídeos). Esos centros son sensibles a variaciones en el pH sanguíneo y en la presión parcial de CO_2 arterial (pCO_2). Cuando el pH tiende a disminuir (acidosis), es estimulada la respiración, disminuyendo la presión alveolar de CO_2 y, por tanto, disminuyendo la concentración de H_2CO_3 extracelular. Cuando existe tendencia a la elevación del pH (alcalosis), la frecuencia respiratoria disminuye, con el consecuente aumento de la pCO_2 alveolar y de la concentración de H_2CO_3.

Adicionalmente, el sistema bicarbonato aumenta su eficiencia en mantener el pH constante en la sangre debido a la presencia de los eritrocitos, ya que el H_2CO_3 puede entrar en ellos y reaccionar con la hemoglobina (Hb), en la siguiente reacción:

$$H_2CO_3 + Hb \leftrightarrow HCO_3^- + HbH^+$$

En los eritrocitos la hemoglobina funciona como *buffer* en forma 6 veces más efectiva que las otras proteínas, debido a su alta concentración en esas células y a sus 38 residuos de histidina. Para captar H^+ la hemoglobina debe estar desoxigenada, forma en la cual se encuentra en los capilares venosos que reciben el CO_2 proveniente de los tejidos.

Control renal del buffer *bicarbonato*

Además de los controles mencionados, el pH extracelular también puede ser regulado vía renal mediante la excreción de iones H^+ y la reabsorción de HCO_3^-. Ese evento puede ser realizado por tres mecanismos interrelacionados, en los cuales están comprometidos tres compartimientos: la sangre, la célula tubular renal y la luz tubular. Los mecanismos incluyen: (a) reabsorción de HCO_3^-/excreción de H^+; (b) excreción de ácido; (c) excreción de amonio (NH_4^+).

La reabsorción de bicarbonato comprende la formación de H^+ y HCO_3^- a partir de CO_2 y H_2O en las células tubulares, por la acción de la anhidrasa carbónica. El H^+ es excretado en la luz tubular, en parte de forma pasiva por gradiente electroquímico, en parte de forma activa en el intercambio por el ion Na^+ (sistema antiport), mientras que el bicarbonato sigue al espacio intersticial y, posteriormente, a la sangre (**Figura 2.5**).

Sustancias con acción inhibitoria sobre la anhidrasa carbónica, como las sulfonamidas, reducen la formación de CO_2, a partir del H_2CO_3, en la luz tubular, así como la formación del H_2CO_3, a partir de CO_2 en el interior de la célula tubular. De esa forma, la reabsorción del ion bicarbonato queda comprometida, causando una acidosis de tipo metabólica, por pérdida de base. El ion H^+ presente en el fluido tubular puede reaccionar: (a) con bicarbonato para formar H_2CO_3, el cual es convertido en CO_2 y H_2O (en ese caso ocurre reabsorción de CO_2, o sea, reabsorción de bicarbonato); (b) con HPO_4^{2-} para formar $H_2PO_4^-$, el cual es excretado como ácido titulable; o (c) con NH_3, que proviene de la desaminación de la glutamina en la célula tubular para formar amonio (NH_4^+), compuesto que no es reabsorbido, sino excretado por la orina.

Los carnívoros tienen la orina más ácida (pH 6,0 a 7,0) que los herbívoros (pH 7,0 a 8,5), en función de la mayor excreción de H^+ proveniente de la mayor cantidad de aminoácidos proteicos de la dieta. La excreción de ácido titulable requiere la reabsorción del catión correspondiente (Na^+) para mantener la neutralidad. En casos de acidosis, la concentración de Na^+ puede, no obstante, estar disminuida debido a la excreción de K^+. Sin embargo, la excreción de este catión es muy regulada y enseguida debe funcionar el mecanismo de excreción de amonio para evitar una hipocalemia, lo que acarrearía consecuencias fatales (falla cardiaca). En la alcalosis la reabsorción renal de HCO_3^- está disminuida, mientras que la excreción de H^+ está aumentada.

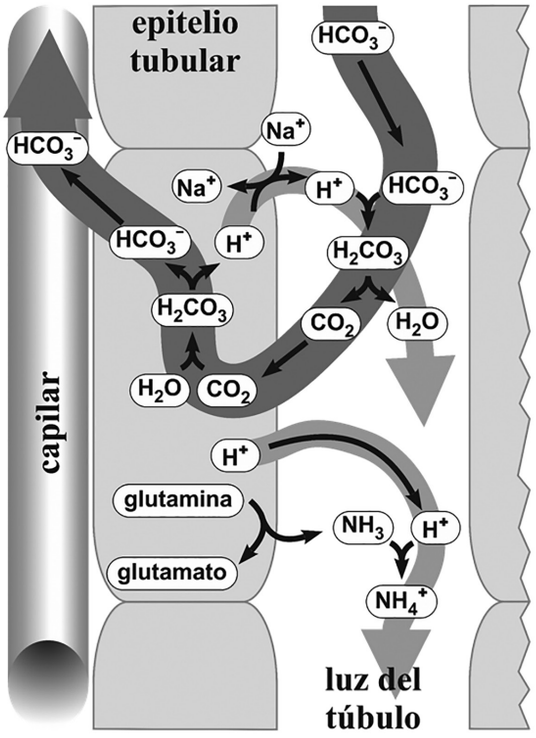


Figura 2.5. Esquema general de la reabsorción de bicarbonato y excreción de H+ en los túbulos renales

Las rutas de reabsorción de bicarbonato y excreción de H+ están indicadas por flechas anchas gris-oscuras y gris-claras, respectivamente.

Otros órganos que interfieren en el equilibrio ácido-básico

Hígado

Durante el ejercicio extenuante, la necesidad de producción de energía por las células musculares es mayor que el aporte de O_2, impidiendo que toda la glucosa sea metabolizada en el ciclo de Krebs. Así, por lo menos parte de la energía necesaria deberá ser producida por la metabolización anaeróbica de la glucosa, con producción de lactato. Este exceso de lactato producido en los músculos es transportado por el sistema circulatorio hasta el hígado, donde será utilizado para la síntesis de glucosa (gliconeogénesis). La glucosa resultante podrá, entonces, ser almacenada en la forma de glicógeno hepático o, si la demanda energética requiere que la glucemia sea repuesta, colocada nuevamente en circulación para ser captada por el tejido muscular. También en el músculo la glucosa podrá ser utilizada para almacenamiento en forma de glicógeno o metabolizada para suplir la demanda energética. Esta interconversión cíclica de lactato en glucosa es llamada ciclo de Cori (**Figura 2.6**). Los eritrocitos son también importante fuente permanente de lactato, una vez que apenas realicen glucólisis anaeróbica.

Este ciclo fue identificado por los bioquímicos checos, naturalizados estadounidenses, Gerty Theresa Cori y su esposo Carl Ferdinand Cori (ganadores del Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1947). De esa forma, el hígado es responsable de remover un ácido orgánico en circulación y convertirlo en una sustancia neutra (glucosa), reduciendo la acidificación sanguínea ocasionada por el ejercicio. Bajo el punto de vista fisiológico es probable que el ciclo de Cori, así descrito, solo ocurra en períodos de ayuno, situación en la cual el metabolismo hepático está direccionado para la gliconeogénesis. En condiciones normales el lactato puede ser captado por diversos tejidos y metabolizado para la producción de energía.

Estómago

El pH del jugo gástrico normalmente es inferior a 2,0. El ácido clorhídrico responsable de este pH extremadamente ácido es secretado por las células parietales de la mucosa gástrica. En un mecanismo de transporte activo, iones H^+ son bombeados al interior de la cavidad estomacal contra un gradiente de concentración de aproximadamente 10^{-7} M, en el interior de la célula parietal, para $10^{-0,4}$ M, en el lumen del estómago. La fuente inmediata de estos protones H^+ es el ácido carbónico, que al disociarse genera también el ion bicarbonato ($H_2CO_3 \rightarrow HCO_3^- + H^+$), el cual será transportado al fluido intersticial y, luego, a la sangre, con la concomitante entrada de un ion Cl^- en la célula parietal. Un esquema de los eventos envueltos en la producción y secreción de ácido clorhídrico en la mucosa estomacal se presenta en la **Figura 2.7**. En este modelo, el ácido clorhídrico no es secretado como tal, sino que los iones H^+ y Cl^- son transportados por procesos diferenciados para la cavidad gástrica. El Cl^-, proveniente de la célula parietal, es activamente transportado a la cavidad gástrica por dos mecanismos: troca por el ion bicarbonato (sistema antiport) y acoplado junto con el Na^+. El ácido carbónico (que irá a generar H^+ y bicarbonato) es originado de CO_2 y agua, en una reacción catalizada por la anhidrasa

carbónica. Es relevante resaltar que en el proceso de producción de jugo gástrico ácido hay alcalinización asociada del plasma sanguíneo (por el bicarbonato), constituyendo la llamada 'marea alcalina' que sucede después de las refecciones.

2.5 Equilibrio hídrico

La capacidad de los animales para mantener constante la composición de los fluidos intra- y extracelulares es un gran avance evolutivo, pues permite una gran independencia con relación a los cambios del medio. Los mecanismos de control están básicamente localizados en los riñones, la sangre y los pulmones, teniendo como objetivo mantener el volumen, la composición iónica y el pH de esos fluidos para que puedan ser realizadas las reacciones enzimáticas del metabolismo. Aproximadamente 60%-75% del peso corporal es agua. Del total de agua, 2/3 están localizados dentro de las células, constituyendo el fluido intracelular. El fluido existente fuera de las células, o sea el fluido extracelular (1/3 restante), está en varios subcompartimientos: 2/3 están en el fluido intersticial, que baña las células, y 1/3 constituye el plasma sanguíneo. La principal diferencia entre el líquido intersticial y el plasma es que este último contiene más proteínas. En el fluido extracelular también están incluidos la linfa, el líquido cerebroespinal y el líquido transcelular, esto es, el contenido en el tracto gastrointestinal. La llamada agua metabólica es una de las fuentes de agua y proviene de los procesos de oxidación. La oxidación total de 1 g de grasa, carbohidrato o proteína resulta en la producción de 1,07, 0,06 o 0,41 g de agua, respectivamente. Como el agua pasa libremente a través de las membranas, el volumen en cada compartimiento está determinado por los solutos que caracterizan cada espacio; en el plasma son las proteínas y el Cl^-, en el fluido extracelular es el sodio, y en el espacio intracelular el potasio (**Figura 2.3**).

Los cambios en el espacio extracelular afectan los otros compartimientos y su control constituye la regulación homeostática. El control es realizado básicamente sobre el volumen y la presión osmótica del fluido extracelular, mediante la acción hormonal del sistema renina-angiotensina-aldosterona, como punto primario, y de la vasopresina (VP) u hormona antidiurética (ADH). Otros puntos de control incluyen señales neurales, como, por ejemplo, el centro de la sed. Los cambios en el volumen efectivo circulante (líquido extracelular en el sistema vascular) producen cambios en la presión sanguínea y en la osmolaridad del plasma. El control de la presión osmótica del fluido extracelular, a su vez, está determinado por la regulación del volumen sanguíneo, o sea, por la ingestión y excreción de agua.

La ingestión de agua está controlada por los mecanismos de la sed, que responden a dos estímulos: (a) Deshidratación celular, cuyos receptores neurales están localizados en las áreas laterales preópticas del cerebro y responden a una disminución hídrica de 1%-2% en las células; pérdidas de agua mayores a 4% del total corporal causa señales de deshidratación; pérdidas de 10% a 20% (dependiendo de la especie) son fatales. (b) Disminución en el volumen extracelular detectado a través de barorreceptores localizados en los grandes vasos sanguíneos. Estos últimos receptores también estimulan la liberación de renina y la producción de angiotensina II, la cual estimula directamente el centro de la sed. El sistema renina-angiotensina estimula la síntesis y secreción de aldosterona en la corteza adrenal. Esta hormona aumenta la tasa de reabsorción de Na^+ en los túbulos renales, aumentando, por tanto, el volumen del fluido extracelular y promoviendo, también, la excreción de K^+ y de H^+ en los mismos túbulos.

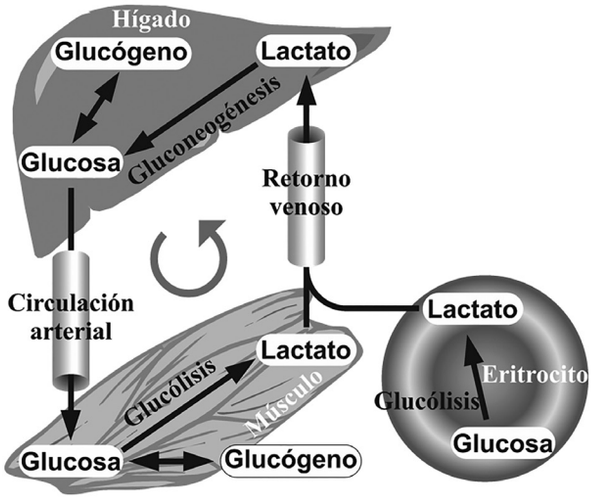


Figura 2.6. Ciclo de Cori

El lactato producido en los músculos y en los eritrocitos por glucólisis anaeróbica es llevado vía retorno venoso al hígado, donde se convierte nuevamente en glucosa, la cual puede ser almacenada como glucógeno hepático o ser liberada en circulación para posterior utilización.

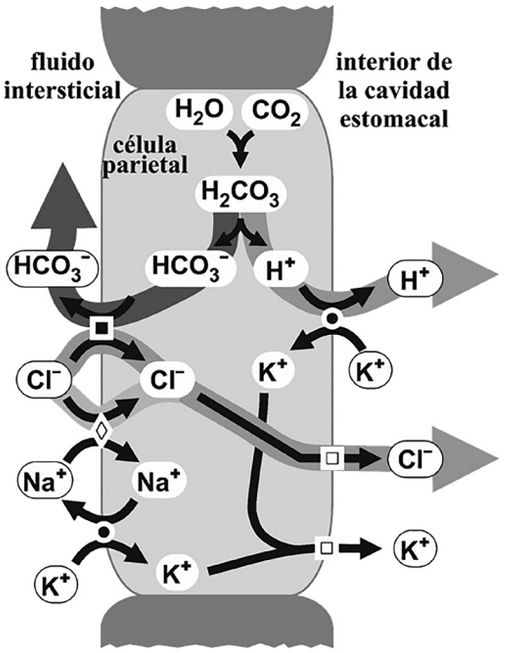


Figura 2.7. Producción de ácido clorhídrico por las células parietales del estómago

Los principales procesos de transporte de iones a través de membranas están representados así: (■) sistema antiport, (◊) transporte acoplado, (●) transporte activo, (□) difusión pasiva. Las flechas anchas gris-claras indican rutas de excreción de H+ y Cl-, mientras que la flecha gris-oscura indica la ruta de reabsorción de HCO_3^-.

La excreción de agua es regulada por la acción de la vasopresina, cuya secreción en la neurohipófisis es estimulada por aumentos de 1% - 2% en la osmolaridad plasmática a través de osmorreceptores localizados en la región supraóptica del hipotálamo. Sin embargo, el volumen del plasma está regulado de forma más rígida por el contenido de Na^+, mediante su excreción y su reabsorción a nivel renal. El aumento en el volumen del fluido extracelular lleva al aumento de la excreción renal de Na^+, provocando mayor pérdida de agua en la orina para disminuir el volumen extracelular. Los mecanismos que regulan la excreción de Na^+ son la tasa de filtración glomerular y la tasa de reabsorción tubular controlada por el sistema renina-angiotensina-aldosterona, principalmente (**Figura 2.8**).

El sistema renina-angiotensina

Este sistema desempeña un importante papel en el mantenimiento del volumen efectivo circulante. La renina es una enzima proteolítica producida por las células yuxtaglomerulares de las arteriolas aferentes de los glomérulos renales. La secreción de renina puede ser estimulada por: (a) disminución en la presión arterial, (b) disminución en la concentración de sodio, (c) estímulo β-adrenérgico, (d) prostaglandinas, y (e) hipovolemia. Los eventos que inhiben la secreción de renina son: (a) hipervolemia, (b) aumento de la presión arterial renal, (c) hipernatremia, (d) estímulos α-adrenérgicos, y (e) angiotensina II.

La renina convierte el angiotensinógeno, proteína que circula en el plasma sanguíneo, en angiotensina I, un decapéptido con limitada acción biológica. La angiotensina I es convertida enzimáticamente en el pulmón y las células endoteliales de los vasos sanguíneos en angiotensina II, octapéptido biológicamente activo. La angiotensina II actúa en varios niveles: (a) estimulando la biosíntesis de aldosterona en la corteza adrenal, (b) causando vasoconstricción y estimulando la liberación de catecolaminas, que también causan vasoconstricción y aumento de la presión arterial, y (c) induciendo sed para, mediante la ingestión de agua, elevar el volumen y la presión sanguíneas. La angiotensina II también se encuentra en el cerebro, constituyendo un posible neurotransmisor.

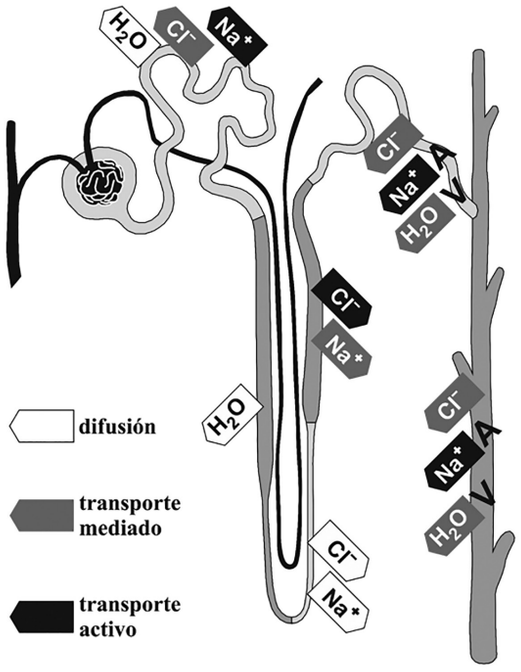


Figura 2.8. Principales procesos de reabsorción de Na+, Cl- y H2O en el nefrón

Los procesos con interferencia de aldosterona o vasopresina están indicados por A o V, respectivamente.

La aldosterona es producida en la zona glomerular de la corteza adrenal por estímulo de la angiotensina II, siendo la hormona más potente que actúa en la reabsorción del sodio en el riñón. La aldosterona también puede ser secretada por estímulo directo del aumento en la concentración plasmática de K^+, obedeciendo a pequeños aumentos (del orden de 0,1 mEq/L). El mecanismo de acción de la aldosterona es mediante la inducción de la formación de proteínas que incrementan la permeabilidad de la membrana apical (luminal) para el sodio, llevando este ion de la luz del túbulo a la célula del túbulo de forma pasiva, y de esta al espacio intersticial por transporte activo, a través de la bomba Na-K ATPasa. La aldosterona estimula la síntesis de varias enzimas mitocondriales, llevando a la formación del ATP necesario para que la bomba funcione.

Vasopresina (hormona antidiurética, ADH)

La vasopresina tiene función importante en la regulación de la osmolalidad de los tejidos. Ella es sintetizada en el hipotálamo y almacenada en la neurohipófisis. La secreción de ADH está relacionada con la concentración de sodio en el plasma, pues este catión es determinante primario de la osmolaridad plasmática. Un aumento de la osmolaridad plasmática es detectado por sensores del hipotálamo, y la respuesta es estimular tanto el centro de la sed, para aumentar el consumo de agua, como la secreción de ADH. La ADH también es liberada cuando disminuye el volumen efectivo circulante, aunque el sistema renina-angiotensina ejerce el control primario sobre cambios en este volumen.

La vasopresina aumenta la reabsorción de agua en los túbulos contorneados distales y en los ductos colectores, utilizando el AMP cíclico (cAMP) como segundo mensajero, el cual activa proteína-quinasas que actúan alterando la permeabilidad de las células tubulares (**Figura 2.8**). Cuando la ingestión de agua es poca, el aumento en la tonicidad de los fluidos corporales induce la secreción de vasopresina y el riñón elabora orina hipertónica (concentrada y en poco volumen). La pérdida de volumen extracelular (ej. hemorragias) también estimula la secreción de vasopresina. La ADH actúa extrarrenalmente como vasoconstrictor arterial, aumentando la presión sanguínea. La acción de la ADH permite mantener la osmolalidad del plasma en intervalos normales relativamente restringidos (270-300 mOsm/kg H_2O).

2.6 Equilibrio electrolítico

El Na^+ es el principal catión extracelular, mientras que el K^+ y el Mg^{2+} son los principales cationes intracelulares. El Cl^- y el HCO_3^- son los aniones que predominan en el espacio extracelular, al paso que las proteínas y el HPO_4^{2-} son los principales aniones intracelulares (**Figura 2.3**). El NaCl contribuye principalmente en la presión osmótica del plasma. El Ca^{2+}, el Mg^{2+}, las proteínas y los fosfatos contribuyen para la presión osmótica del fluido intracelular. Las concentraciones de Na^+ y K^+ son mantenidas por la bomba Na-K ATPasa de las membranas plasmáticas, la cual transporta de forma activa el Na^+ al exterior de las células y el K^+ al interior. La membrana plasmática tiene una permeabilidad muy limitada para los fosfatos orgánicos y las proteínas.

El riñón es el órgano más importante en la regulación de volumen y la composición de los fluidos corporales. Las unidades funcionales del riñón, los nefrones, realizan tres procesos: (a) ultrafiltración a través de los capilares glomerulares, (b) reabsorción selectiva de fluidos y de solutos en los túbulos proximales, asa de Henle, túbulos distales y ductos colectores; y (c) secreción selectiva de solutos en el lumen de los túbulos contorneados proximal y distal.

El volumen total del filtrado glomerular diario en el humano es de 180 L, y la reabsorción es de 179 L, produciendo aproximadamente 1 L de orina. Alrededor de 75% del Na^+, del Cl^- y del agua del filtrado glomerular son reabsorbidos en los túbulos proximales, lo restante es reabsorbido a lo largo del asa de Henle, túbulos contorneados distales y ductos colectores. La reabsorción de sodio en los túbulos es realizada por tres mecanismos: (a) el sodio es transportado del lumen al interior de la célula tubular debido al gradiente químico presente, siendo enseguida enviado, de forma activa, al espacio intersticial, mediante la bomba Na-K ATPasa, proceso favorecido por la aldosterona; (b) cambio de Na^+ presente en el líquido luminal del túbulo por el H^+ del interior de la célula tubular, mediante un transportador de membrana antiport; y (c) ingreso del sodio impulsado por iones Cl^-, los cuales están en la luz del túbulo con gradiente favorable para que sean transportados a la célula tubular. Los aniones (Cl^-, HPO_4^{2-}) son reabsorbidos pasivamente debido al gradiente eléctrico preestablecido por la transferencia de Na^+. El agua pasa también pasivamente con el soluto (Na^+). El ajuste restante es realizado por las hormonas vasopresina y aldosterona (**Figura 2.8**).

La homeostasis del K^+, principal catión intracelular, es regulada de forma diferente al Na^+. El mecanismo renal está más orientado a la prevención de la hipercalemia (aumento de la concentración plasmática de potasio), la cual puede causar problemas cardíacos, y menos orientado a la prevención de la hipocalemia. El K^+ es secretado en el túbulo distal, aunque del 85 % al 90 % del K^+ filtrado sea reabsorbido en el túbulo proximal por mecanismos de transporte activo. El proceso de secreción es pasivo, obedece a un gradiente, ya que la luz tubular se encuentra electronegativa debido a la reabsorción activa del Na^+. También puede haber excreción activa de K^+ en los ductos colectores. La secreción tubular del K^+ es regulada por: (a) el K^+ intracelular, (b) la aldosterona (por favorecer la reabsorción activa de Na^+), (c) la tasa de flujo urinario (mayor flujo, mayor excreción), y (d) el estado ácido-básico, en que la alcalosis provoca salida de protones H^+ y entrada de K^+ en las células, llevando a un aumento del K^+ intracelular y disminución del K^+ plasmático (hipocalemia), ocurriendo mayor excreción de K^+ renal a causa del aumento de este ion en las células tubulares.

Diferencia aniónica o anion gap

La diferencia aniónica (*anion gap*) se refiere a la diferencia entre el catión más importante (Na^+) y los aniones mensurables (Cl^- y HCO_3^-). Al Na^+ puede adicionarse el K^+, aunque este no acreciente más que 4 mmol/L:

$$DA = \{[Na^+] + [K^+]\} - \{[Cl^-] + [HCO_3^-]\}$$

En realidad, la DA ofrece una idea de los llamados aniones no mensurables, o sea, las proteínas plasmáticas cargadas negativamente (albúmina), ácidos orgánicos (láctico y cetoácidos) y ácidos inorgánicos (sulfatos y fosfatos). La DA normal en la mayoría de las especies está en torno de 10-20 mmol/L. La DA puede estar disminuida cuando aumenta la concentración de Cl^-. Eso puede ocurrir en la hipercloremia en acidosis metabólica compensada, cuando hay disminución de $[HCO_3^-]$ con aumento de $[Cl^-]$, o cuando aumentan las proteínas con carga positiva (aumento de IgG en el mieloma múltiple). Aumentos de DA son observados en acidosis metabólica por ácidos orgánicos (cetosis, aumento de lactato, diabetes mellitus) y en acidosis urémicas o en intoxicaciones (salicilato, paraldehído, metaldehído, metanol, etilenglicol). En esos casos los aniones de los ácidos provocan disminución de $[Cl^-]$ sanguíneo. Así, en una acidosis metabólica con alta DA hay sospecha de acumulación de aniones (ácidos), mientras que una acidosis con baja DA puede estar relacionada con hipercloremia. Por otro lado, cuando el cambio de DA no acompaña el cambio en la concentración de bicarbonato puede estar relacionada a un desequilibrio ácido-básico mixto, en el cual coexisten acidosis y alcalosis. En disturbios ácido-básicos primarios el bicarbonato y la pCO_2 se desvían en la misma dirección. Si esos dos parámetros se desvían en direcciones opuestas, se trata de una alteración mixta.

Exceso de base (EB)

Generalmente los valores de pH y de pCO_2 no reflejan los desequilibrios ácido-básicos primarios, sino que representan las respuestas compensatorias. Así, el EB indica el desvío de la base *buffer* de los valores normales. Base *buffer* se refiere a la suma de todos los aniones en la sangre, en condiciones estándar. Por lo general el EB se interpreta como el desvío en la concentración normal del bicarbonato. En un animal con acidosis metabólica el EB indica la cantidad de bicarbonato requerida para corregir el equilibrio ácido-básico. A fin de calcular ese valor puede ser usada la siguiente fórmula:

$$EB\ (mEq/L) = PC\ (kg) \times 0{,}3 \times [25 - BP\ (mEq/L)]$$

donde PC equivale al peso corporal y BP corresponde a la concentración plasmática de bicarbonato. La constante 0,3 representa el volumen del espacio extracelular donde está localizado el bicarbonato (30 % del peso corporal). Así, en un animal de 20 kg con concentración plasmática de bicarbonato de 15 mEq/L, el bicarbonato requerido para volver al estado normal será:

$$EB = 20 \times 0{,}3 \times 10 = 60\ mEq\ de\ HCO_3^-$$

Osmolaridad

La principal fuerza que influye en la distribución de agua en los espacios intra- y extracelulares es la presión osmótica, la cual depende de los solutos disueltos, principalmente electrolitos, compuestos orgánicos de bajo peso molecular (glucosa, urea, aminoácidos) y proteínas. El papel de las proteínas en la distribución

(entrada y salida) de agua es de especial importancia en los capilares, una vez que la concentración de electrolitos y compuestos de bajo peso molecular es prácticamente la misma entre el plasma y los fluidos tisulares, ya que ambos son espacios extracelulares. El plasma tiene una presión oncótica (presión osmótica debida a las proteínas) mayor que la de los fluidos tisulares, lo que resulta en la movilización de agua al interior del plasma. Esa fuerza es contraria a la presión hidrostática de la sangre, que tiende a forzar la salida de líquidos de la sangre al espacio tisular. Así, en los capilares arteriales la presión hidrostática es mayor que la oncótica, ocasionando la salida de líquidos. En los capilares venosos y linfáticos la situación se invierte, pues la presión hidrostática es menor que la oncótica y los líquidos entran en los capilares. La albúmina es la principal proteína que contribuye a la presión oncótica. Para que ocurra formación de edema la concentración de albúmina debe caer por lo menos en 50 %. Como el Na^+ es el principal catión presente en el plasma y la concentración de cationes debe estar equilibrada con la de aniones (Cl^-, HCO_3^-, proteínas, sulfato, fosfato), el total de electrolitos puede ser calculado multiplicando la concentración de sodio por 2. Así, la osmolaridad (en mOsm/kg H_2O) o la osmolaridad (en mOsm/L H_2O) puede entonces ser calculada por la siguiente fórmula (donde todos los valores están en mmol/L):

$$\text{Osmolaridad} = 2 \times [Na^+] + [\text{glucosa}] + [\text{urea}]$$

2.7 Alteraciones del equilibrio hídrico

El equilibrio hidroelectrolítico está basado en procesos de regulación del volumen hídrico y de osmorregulación. La regulación del volumen es controlada por múltiples barorreceptores que activan la secreción de aldosterona en la corteza adrenal, mientras que la osmorregulación está gobernada por osmorreceptores que afectan la secreción de la hormona antidiurética (vasopresina) en la neurohipófisis y regulan el centro de la sed. La ADH también aumenta la reabsorción de agua en los túbulos renales, afectando, por tanto, la osmolaridad del plasma, pero sin afectar el transporte de sodio. La aldosterona aumenta la reabsorción tubular de sodio, e indirectamente, la de agua. Así, la osmorregulación es obtenida por cambios en el equilibrio hídrico, y la regulación del volumen es obtenida, primariamente, por cambios de equilibrio del sodio.

Deshidratación

La deshidratación es una alteración del equilibrio hídrico en que la pérdida de líquidos del organismo es mayor que el líquido ingerido. La consecuencia es una disminución del volumen sanguíneo circulante que lleva a cambios tisulares.

Etiología

Existen dos causas principales de deshidratación: por consumo insuficiente de agua y por pérdida excesiva de líquidos, siendo esta última la más común. La pérdida de agua puede ser debida a vómito, diarrea, sudoración excesiva, poliuria, hiperventilación, hemorragia, ingestión excesiva de carbohidratos en rumiantes y patologías gastrointestinales (peritonitis, obstrucción). El bajo consumo debe tener en cuenta la calidad y cantidad de agua ofrecida, especialmente en animales de alta producción. Cuando la pérdida de agua ocurre sin pérdida o con poca pérdida de electrolitos, como en la respiración jadeante por estrés, calor o ejercicio intenso, o por la restricción de agua, la osmolaridad y la concentración de sodio tienden a aumentar. En ese caso ocurre deshidratación hipertónica, en la cual la pérdida de agua excede la pérdida de $Na^+ + K^+$. Las pérdidas de agua son compartidas en los espacios intra- y extracelulares. Por tanto, la hipernatremia (aumento de la concentración plasmática de sodio) producida por la pérdida de agua se caracteriza por contracción del volumen intracelular y reducción del volumen celular.

Cuando la pérdida de agua viene acompañada de pérdida de cationes (Na^+ y K^+), el volumen total disminuye, quedando isotónicos, sin embargo, los líquidos del organismo. Eso ocurre, por ejemplo, en la sudoración excesiva en caballos, vómito, diarrea aguda, choque hipovolémico, secuestro de fluidos en el tracto gastrointestinal, fiebre prolongada, quemaduras exudativas, heridas abiertas y hemorragias. Cuando ocurre pérdida excesiva de Na^+ con disminución de la osmolaridad del plasma, como en la administración inapropiada de diuréticos o en la insuficiencia adrenocortical para producir aldosterona, hay deshidratación hipotónica.

Implicaciones metabólicas de la deshidratación

La capacidad de sobrevivir sin agua es nula. Algunos animales pueden mantener un equilibrio hídrico en circunstancias adversas (camello, oveja Merino). Sin

embargo, esta capacidad no es ilimitada y depende de la posibilidad de almacenamiento de agua en rumen, los preestómagos o en los espacios extracelulares la posibilidad de ajustar las concentraciones de electrolitos y del funcionamiento renal. Cuando ocurre falla en los mecanismos reguladores del equilibrio hídrico la muerte ocurre por acidosis, desequilibrio electrolítico, toxemia y septicemia.

En la deshidratación disminuye la concentración de líquido en los tejidos con alteración del metabolismo tisular y merma del volumen circulante. La respuesta fisiológica inicial es la desaparición de líquido de los tejidos y la conservación del volumen sanguíneo, mediante la extracción de líquidos del espacio intersticial. Los órganos esenciales (corazón, tejido nervioso) aportan poco líquido, ocurriendo más pérdidas en los tejidos conectivo, muscular y cutáneo. La respuesta secundaria es la disminución del contenido líquido de la sangre (volumen circulante), con aumento de la concentración de los solutos plasmáticos, llevando a viscosidad de la sangre que afecta la dinámica circulatoria y a insuficiencia circulatoria periférica. Inicialmente el riñón se encarga de mantener el equilibrio hídrico por disminución de la producción de orina, la cual se vuelve más concentrada. Ese mecanismo es controlado por la vasopresina (ADH) y la aldosterona. A nivel de tracto digestivo disminuye la humedad y el volumen de las heces. En el metabolismo tisular la deshidratación ocasiona aumento del catabolismo de grasa, glúcidos y proteínas para producir agua metabólica. Las condiciones anaeróbicas en función de la disminución del volumen circulante, que causa poca irrigación sanguínea, favorecen la presentación de acidosis (por aumento de lactato), mientras que la disminución de la filtración renal permite la acumulación plasmática de urea y creatinina (azotemia prerrenal). También hay leve hipertermia, pues no existe líquido suficiente para mantener la disipación del calor corporal.

Señales clínicas de la deshidratación

Las señales clínicas de la deshidratación aparecen cuando la pérdida de agua representa más de 8% del peso corporal, lo que en un bovino equivale a aproximadamente 40 L de agua. En animales confinados y en clima cálido es necesario mantener agua fresca para consumo suficiente, considerando que, en condiciones normales, un animal consume por lo menos 12% del peso vivo en agua y que 62% de la pérdida de agua corporal está representada en manutención (sudoración, excreción) y 38% en la respiración, pérdida que aumenta en situación climática desfavorable (humedad y temperaturas ambientales excesivas). En pequeños animales se configura polidipsia con un consumo de agua superior a 100 mL/kg/día, y poliuria con una producción de orina mayor de 50 mL/kg/día.

Las principales señales clínicas de deshidratación son resecamiento y pérdida de elasticidad de la piel, pulso débil, taquicardia, disminución en la producción de saliva, oliguria, hundimiento del globo ocular, debilidad muscular, pérdida de apetito, convulsiones, hemoconcentración, baja de la producción de leche, pérdida marcada de peso, pérdida de la función renal, uremia y muerte.

Se considera una deshidratación leve con hasta 6% de pérdida de líquidos; moderada, de 6% a 8%; severa, con 10% a 12%, y choque, con más de 15% de pérdida de agua corporal (**Tabla 2.2**). Una forma de evaluar en laboratorio el grado de deshidratación es a través del hematocrito y de la concentración de hemoglobina y proteínas totales en el plasma (principalmente albúmina), las cuales aumentan proporcionalmente al grado de deshidratación. La urea también se encuentra elevada en la deshidratación (**Tabla 2.3**).

La diarrea es una frecuente manifestación clínica en múltiples enfermedades, la cual afecta de forma dramática animales jóvenes, perjudicando el equilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico. En la diarrea existe pérdida de líquidos, lo que causa deshidratación, pérdida de bicarbonato, que lleva a acidosis metabólica, pérdida de electrolitos (sodio, potasio, cloro) y alteraciones en el metabolismo energético, lo cual causa principalmente hipoglucemia. Las principales manifestaciones clínicas de la diarrea son anorexia, hematocrito elevado, acidosis metabólica, hiponatremia, hipocalemia, hipoglucemia, oliguria y azotemia (**Tabla 2.2**).

Tratamiento de la deshidratación

En el tratamiento de la deshidratación se debe considerar la composición, cantidad y vía de las pérdidas de líquidos a reponer para así elegir la ruta de administración más adecuada. El volumen a ser aplicado debe asegurar la restauración del líquido perdido, más el necesario para retomar las funciones normales, y el equilibrio ácido-básico. En la medida de lo posible, la vía de rehidratación debe ser oral y el ritmo de hidratación inicialmente calcularse para

veinticuatro horas, a fin de permitir la compensación intracelular y evitar un posible edema pulmonar. En la **Tabla 2.4** están relacionadas las principales indicaciones terapéuticas en casos de alteraciones hidroelectrolíticas para pequeños animales.

Un protocolo sugerido en caso de deshidratación leve por diarrea en terneros puede incluir rehidratación oral, administrando bicarbonato, sales y glucosa. Una fórmula básica puede incluir $NaHCO_3$ (36 g), NaCl (38 g), KCl (10 g) y glucosa (200 g) en 2 L de agua para administrar tres veces al día. Se recomienda no administrar leche y aplicar la rehidratación oral por dos días, como mínimo. Para deshidratación moderada y severa en terneros se recomienda usar soluciones intravenosas isotónicas de NaCl (18 g), $NaHCO_3$ (17 g) KCl (2,2 g) y glucosa 10% para 4 L de agua. El primer litro de la solución se debe administrar vía endovenosa durante veinte a treinta minutos, y los otros tres litros durante las siguientes dos horas. Después se puede continuar con rehidratación oral con 6 L por día, divididos en tres dosis, cada 24 h, por 36 a 48 h. En la **Tabla 2.3** se muestran valores bioquímicos del plasma antes y después de una terapia de rehidratación en terneros.

Sobrehidratación

La sobrehidratación es rara en los animales, pero puede ocurrir iatrogénicamente cuando se administra exceso de fluidos en pacientes con función renal comprometida. En ese caso la retención de sodio es el problema primario, mientras que el exceso de fluidos (en la tentativa de diluir los electrolitos) es secundario.

La hiponatremia (reducción de la concentración plasmática de sodio) y la hiposmolaridad subsecuentes llevan a la expansión del espacio extracelular con aumento de volumen celular, del volumen plasmático y del espacio extracelular. Con eso ocurre sobrecarga cardiovascular que puede llevar a la formación de edema pulmonar y generalizado. Habitualmente el animal compensa la sobrehidratación con aumento de la excreción renal de agua. La sobrehidratación también puede llevar a hemólisis por alteración de la osmolaridad del plasma.

Poliuria y polidipsia

El síndrome poliuria/polidipsia se observa con frecuencia asociado a una gama de disturbios hormonales o no hormonales. Se define poliuria como la producción de un volumen exagerado de orina por día, mientras que polidipsia se define como la ingestión excesiva de agua por día. El consumo de agua en perros y gatos normalmente varía entre 20 y 90 mL/kg/día, considerando la ocurrencia de polidipsia cuando la cantidad ingerida de agua es superior a 100 mL/kg/día en perros o superior a 45 mL/kg/día en gatos. Una densidad urinaria menor o igual a 1,015 sugiere la ocurrencia de poliuria, definida clásicamente por una diuresis superior a 50 mL/kg/día tanto para perros como para gatos. El volumen urinario normal para ambas especies está entre 20 y 45 mL/kg/día.

Tabla 2.2 Señales clínico-laboratoriales de deshidratación en bovinos (Bouda et al., 1997)

Señales clínicas	Grado de la deshidratación		
	Leve	Moderada	Severa
Hundimiento de los ojos (mm)	1-2	2-4	> 4
Tiempo de llenado capilar (s)	1-2	3-5	> 5
Mucosas	húmedas, calientes	anémicas, calientes	secas, frías
Reflejo de succión (lactantes)	+	–	–
Estado físico	normal	postrado	extremidades frías, coma
Temperatura	normal	normal	hipotermia
Pérdida de peso corporal (%)	4-6	6-8	> 8
pH sanguíneo	7,30	7,25	< 7,15
Exceso de base (mmol/L)	−5,0	−10,0	< −15,0
HCO_3^- (mmol/L)	20	15	< 10
Hematocrito (%)	40	45	> 50

Tabla 2.3 Valores laboratoriales antes y después de rehidratación oral en terneros con diarrea (Bouda et al., 1997)

Parámetro	Antes de rehidratación (n = 29)	Después de rehidratación (n = 27)
pH	7,284	7,366
Exceso de base (mmol/L)	−5,86	+0,3
HCO_3^- (mmol/L	18,9	24,6
pCO_2 (mmHg)	39,3	43,2
Hematocrito (%)	38,9	32,0
Urea (mg/dL)	55,5	27,2
Glucosa (mg/dL)	65,2	81,6
Proteína total (g/L)	62,1	59,0
Calcio (mmol/L)	2,82	2,58
Cloro (mmol/L)	102,7	99,5
Potasio (mmol/L)	5,23	4,47
Sodio (mmol/L)	132,6	138,1

Etiología

En la mayoría de los casos existe un disturbio de base que provoca poliuria por mecanismos distintos, con polidipsia compensatoria. No obstante, algunas condiciones clínicas están asociadas a polidipsia primaria y poliuria compensatoria. Las principales causas de poliuria/polidipsia están listadas en la **Tabla 2.5**. En general la ocurrencia de polidipsia psicogénica está asociada a una alteración comportamental, muchas veces para llamar la atención del propietario (sobre todo por parte de perros), y comúnmente animales con este tipo de disturbio viven en ambientes restrictos. Empero, puede haber disturbios idiopáticos en el centro de la sed que causan ingestión excesiva de agua. De cualquier forma, en estos casos ocurre supresión de la secreción de ADH. Esta incapacidad puede estar asociada a alteraciones congénitas, o a lesiones adyacentes a las neuronas secretoras de la hormona.

La diabetes insípida nefrogénica primaria se refiere a una condición rara en la que los túbulos renales no responden a la ADH, a pesar de estar siendo la hormona secretada de forma normal. Esta alteración puede ser funcional o estructural, ocurriendo insensibilidad del nefrón a los efectos antidiuréticos de la ADH.

La forma más común de poliuria primaria observada en la clínica es la que se puede llamar diabetes insípida secundaria, o adquirida. En esta situación, un disturbio renal, metabólico u hormonal promueve insensibilidad renal a la ADH. Esta insensibilidad generalmente es reversible si la causa del problema se identifica y trata (ej. piómetra, pielonefritis). De forma general, la ocurrencia de poliuria y polidipsia puede agravar aún más el problema por causar la pérdida excesiva de solutos del intersticio renal (sodio, urea). La tasa de flujo aumentada en los túbulos renales reduce la absorción de estos solutos, provocando menor concentración de ellos en la médula renal (*washout* medular). El resultado final es disminución de la fuerza osmótica para la absorción del líquido tubular, resultando en más poliuria. Condiciones como diabetes mellitus, síndrome de Fanconi (glucosuria renal primaria) o períodos posobstructivos, donde una gran cantidad de solutos están presentes en la luz tubular, resultan en diuresis osmótica una vez que estos solutos impiden la reabsorción adecuada de agua. De la misma forma, en el hipoadrenocorticismo ocurre deficiencia de la secreción de la aldosterona, resultando en reabsorción de sodio inadecuada con el consecuente aumento de la carga de sodio en el fluido tubular (natriuresis). Esta mayor carga de sodio en el túbulo distal promueve un efecto osmótico, inhibiendo la reabsorción de agua con la consecuente diuresis osmótica.

Tabla 2.4 Alteraciones hidroelectrolíticas e indicaciones terapéuticas en pequeños animales (Montiani & Pachaly, 2000)

Alteración	Pérdida hidroelectrolítica	Alteración metabólica	Alternativas de terapia
Estrés, ejercicio intenso, fiebre	Agua	deshidratación hipotónica	solución de glucosa 5 %; solución hipotónica (NaCl 0,45 %)
Anorexia	K^+	deshidratación isotónica, acidosis	solución isotónica Ringer-lactato, KCl, glucosa
Vómito	agua, K^+, Na^+, Cl^-, H^+	deshidratación iso- o hipertónica, alcalosis	solución isotónica Ringer-lactato, solución hipotónica (NaCl 0,45 %)
Vómito crónico	agua, K^+, Na^+, Cl^-, H^+, HCO_3^-	deshidratación isotónica, acidosis	solución isotónica Ringer-lactato
Diarrea	agua, K^+, Na^+, Cl^-, HCO_3^-	deshidratación iso- o hipertónica, acidosis	solución isotónica Ringer-lactato, solución isotónica NaCl 0,9 % + bicarbonato
Diarrea crónica	agua, K^+, Na^+, Cl^-, HCO_3^-	deshidratación isotónica, acidosis	solución isotónica NaCl 0,9 % + bicarbonato
Obstrucción intestinal	agua, Na^+, Cl^-, HCO_3^-	acidosis metabólica	solución isotónica Ringer-lactato
Hiperadrenocorticismo	agua, K^+	deshidratación isotónica, alcalosis metabólica leve	solución isotónica, solución isotónica Ringer-lactato + KCl
Hipoadrenocorticismo	agua, Na^+, retención de K^+	acidosis, hipercalemia	solución isotónica NaCl 0,9 %, solución isotónica Ringer-lactato
Insuficiencia renal aguda oligúrica	HCO_3^-, retención de K^+, Na^+, Cl^-	deshidratación iso- o hipertónica, acidosis	diurético (glucosa 20 %, manitol, furosemida, dopamina), solución hipotónica + bicarbonato
Insuficiencia renal aguda poliúrica	agua, K^+, Na^+, Cl^- HCO_3^-	acidosis metabólica	solución isotónica Ringer-lactato
Insuficiencia renal crónica	agua, K^+, Na^+, Cl^-, HCO_3^-	deshidratación iso- o hipertónica, acidosis, hiponatremia	solución isotónica NaCl 0,9 % + bicarbonato + KCl
Insuficiencia hepática	K^+, Na^+, HCO_3^-, HPO_4^{2-}	hiponatremia, hipocalemia, hipofosfatemia, acidosis	solución isotónica NaCl 0,9 % + glucosa + bicarbonato + KCl, fosfato, proteína
Insuficiencia cardiaca	retención de agua y Na^+	acidosis metabólica	solución de glucosa 5 %, evitar sodio
Obstrucción uretral	Na^+, Cl^-, retención de K^+	deshidratación iso- o hipertónica, acidosis	solución isotónica NaCl 0,9 %
Diabetes mellitus	agua, K^+, Na^+, Cl^-, HCO_3^-	acidosis metabólica	solución isotónica + KCl + fosfato, solución hipotónica si osmolaridad > 350 mOsm/L, bicarbonato si < 13 mEq/l

Tabla 2.5 Principales causas de polidipsia primaria con poliuria secundaria y de las principales causas de poliuria primaria con polidipsia secundaria

Polidipsia primaria (con poliuria secundaria)

- Polidipsia psicogénica (compulsión de beber agua)
- Diabetes insípida dipsinogénica (disturbio del centro de la sed)
- Trastornos metabólicos (hipertiroidismo, insuficiencia hepática)

Poliuria primaria (con polidipsia secundaria)

- Diabetes insípida central (falta de ADH)
- Diabetes insípida nefrogénica primaria (congénita o familiar)
- Diabetes insípida nefrogénica secundaria (acromegalia, insuficiencia renal crónica, drogas, enfermedades hepáticas, hiperadrenocorticismo, hipercalcemia, hipertiroidismo, hipoadrenocorticismo, hipocalemia, diuresis posobstructiva, pielonefritis, piómetra)
- Diuresis osmótica (diabetes mellitus, glicosuria renal primaria, diuresis posobstructiva, falencia renal, hipoadrenocorticismo, natriuresis, uso de diuréticos, dietas pobres en proteínas)

Muchas veces resulta fácil identificar el problema cuando la enfermedad que está causando poliuria/polidipsia presenta una manifestación clásica, por ejemplo, una hembra en diestro con secreción vaginal purulenta y abdomen dolorido y distendido (piómetra), un perro de media edad a viejo con rarefacción pilosa bilateral y abdomen pendular (hiperadrenocorticismo), un gato con queja de adelgazamiento, agitación y tiroides palpables (hipertiroidismo), o un paciente con poliuria/polidipsia, polifagia, pérdida de peso y surgimiento abrupto de cataratas bilaterales (diabetes mellitus). La presencia de andar plantígrado en un gato con poliuria y polidipsia es bastante sugestiva de diabetes mellitus. Los linfonodos del paciente deben ser evaluados en busca de linfadenopatía, que puede indicar linfoma con hipercalcemia secundaria. La presencia de un tumor perianal (adenocarcinoma de saco anal) también puede estar asociado a hipercalcemia, con poliuria/polidipsia concomitante. No obstante, animales con diabetes insípida o polidipsia psicogénica se mantienen alertas y activos y no acostumbran revelar alteraciones al examen clínico. Ni siquiera la deshidratación es visible en estos pacientes, una vez desarrollan esta señal apenas sí presentan restricción de agua.

Exámenes complementarios en casos de poliuria

El uroanálisis es el examen más simple e importante a ser solicitado frente a la queja de poliuria/polidipsia. La hipostenuria (densidad específica de la orina menor de 1,008), isostenuria (entre 1,008 y 1,012) o una densidad inferior a 1,025 deben estar obligatoriamente presentes. La evaluación de la densidad específica de la orina es importante porque permite una buena diferenciación entre las causas del problema. Por ejemplo, la hipostenuria persistente por lo general aleja la posibilidad de insuficiencia renal una vez demuestra que los riñones todavía son capaces de reabsorber solutos, diluyendo aún más el filtrado glomerular. La hipostenuria persistente está asociada a polidipsia psicogénica, diabetes insípida central total o hipertiroidismo en gatos. Ocasionalmente pacientes con hiperadrenocorticismo pueden presentar hipostenuria. Una densidad específica de la orina entre 1,008 y 1,029 está asociada con formas de diabetes insípida nefrogénica, a pesar de que ocasionalmente casos de polidipsia psicogénica y deficiencia parcial en la secreción de ADH puedan resultar en densidad específica en esta franja. Pacientes con diabetes mellitus deben obligatoriamente presentar glucosuria, lo que suele causar densidad superior a 1,035. Una densidad específica de la orina superior a 1,030, sin glucosuria, descarta la existencia de poliuria.

En el examen químico de la orina la presencia de proteinuria puede indicar desde procesos patológicos glomerulares hasta infección del tracto urinario inferior, pero la evaluación del sedimento urinario es útil en este caso. Por ejemplo, la bacteriuria, así como la

piuria, pueden indicar pielonefritis, aunque diversas enfermedades que cursan con poliuria/polidipsia predisponen al paciente a infecciones del tracto urinario sin existencia de pielonefritis. Es indicada la realización de cultivo y antibiograma de muestras de orina con baja densidad específica, una vez que el sedimento urinario puede estar diluido en el gran volumen urinario. De la misma forma, la presencia de cilindros hialinos, celulares, granulosos o céreos pueden ofrecer buenas pistas de procesos patológicos del tracto urinario asociados a la poliuria/polidipsia.

El hemograma puede indicar deshidratación por el aumento del hematocrito, infecciones o anemia (hipoadrenocorticismo, insuficiencia renal crónica, neoplasias). Perros con síndrome de Cushing o gatos con hipertiroidismo tienden a presentar hemograma de estrés (neutrofilia con eosinopenia y linfopenia). Un perfil bioquímico completo adicional permite una mejor evaluación del paciente, permitiendo en la mayoría de las veces afirmar un diagnóstico presuntivo. La **Tabla 2.6** presenta las principales causas de anormalidades bioquímicas observadas en perros con poliuria/polidipsia. La evaluación de la natremia es interesante por auxiliar en la investigación de polidipsia primaria y poliuria primaria. Animales con polidipsia psicogénica ingieren volúmenes excesivos de agua y acaban diluyendo el medio extracelular, que se vuelve hiposomótico, resultando en hiponatremia. Animales que presentan disturbios asociados a mayor pérdida renal de agua tienden a presentar diferentes grados de deshidratación, concentrando el medio extracelular, que se vuelve hiperosmótico con consecuente hipernatremia.

Tratamiento de la polidipsia

El tratamiento de la polidipsia primaria (psicogénica) puede ser realizado a través de cambios ambientales y comportamentales, como aumentar la rutina de ejercicios, mantener al animal en un ambiente más espacioso, aumentar el contacto del animal con personas, así como introducir un nuevo animal para hacer compañía. Estas medidas pueden tener éxito ya que la mayoría de los perros con polidipsia primaria son sedentarios y viven en ambientes pequeños y aislados. La reducción gradual de la ingestión de agua del animal para valores fisiológicos (menor que 100 mL/kg/día) puede ser forzada a lo largo de dos a cuatro meses ofreciendo al perro una cantidad fija de agua suficiente para atender su necesidad diaria (60-80 mL/kg/día) y divididas en pequeñas porciones. A largo plazo este procedimiento puede quebrar el ciclo de polidipsia/poliuria y restablecer espontáneamente la ingestión de volúmenes adecuados de agua.

Diabetes insípida

El término diabetes se origina del griego *diabaino* (pasar a través), y fue usado por primera vez por Areteo di Capadoccia, en el siglo II, para designar pacientes portadores de un mal asociado a poliuria y polidipsia, con adelgazamiento progresivo, que acometía a personas jóvenes, con consecuencias fatales, o a personas de edad y obesas. Este mal relatado por Areteo se trataba de la diabetes mellitus, aunque el término latino *mellitus* (miel) solo se adicionó al nombre del disturbio en el siglo XVIII con el objetivo de distinguirla de la diabetes insípida (sin olor, sin gusto), una vez que los pacientes con diabetes mellitus presentaban orina dulce que atraía moscas y otros insectos.

La diabetes insípida se refiere a una condición patológica asociada a intensa poliuria y polidipsia derivada de la deficiencia en la producción de la hormona antidiurética (ADH) (diabetes insípida central) o de la reducida sensibilidad renal a la ADH (diabetes insípida nefrogénica). La ADH es un neuropéptido formado por 9 aminoácidos (Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2), que es secretado por las neuronas hipotalámicas de los núcleos supraóptico y paraventricular, frente a situaciones de aumento en la osmolaridad plasmática o reducción en el volumen sanguíneo. En circulación, la ADH presenta una vida media extremadamente corta (uno a tres minutos) y puede actuar sobre diferentes tipos de receptores. Las células-blanco de la ADH con relación al control hídrico son los receptores V2 localizados en las paredes basal y lateral de las células que forman el nefrón distal. Una vez activados, estos receptores estimulan la mayor reabsorción de agua por la formación de canales de agua (acuaporinas) para el paso de agua de la luz tubular al intersticio renal hiperosmótico. La ADH presenta distintas funciones, pero su deficiencia conlleva a drásticas consecuencias frente a su acción sobre los receptores V2, una vez que otros estímulos y hormonas son capaces de controlar el tono vascular y la secreción de la ADH.

Tabla 2.6 Principales anormalidades bioquímicas observadas frente a diferentes causas de poliuria/polidipsia en pequeños animales

Anormalidades en la bioquímica sanguínea	Causas que cursan con poliuria/polidipsia
Azotemia prerrenal	Hipoadrenocorticismo
Azotemia renal	Insuficiencia renal, hipercalcemia
Baja concentración de urea	Diabetes insípida central, insuficiencia hepática
Aumentos de actividad de enzimas ALT y FA	Enfermedades hepáticas, insuficiencia hepática, hiperadrenocorticismo, hipoadrenocorticismo, diabetes mellitus, uso de fenobarbital
Hiperglucemia	Diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo, uso de glucocorticoides
Hipercalcemia	Hipercalcemia maligna, linfoma, adenocarcinoma de sacos anales, hipoadrenocorticismo, insuficiencia renal, hiperparatiroidismo primario
Hiperlipidemia	Diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo
Hipocalemia	Diabetes mellitus, hiperaldosteronismo, insuficiencia renal, pérdidas gastrointestinales
Hipercalemia	Hipoadrenocorticismo, insuficiencia renal crónica
Hiponatremia	Hipoadrenocorticismo, polidipsia primaria, insuficiencia renal
Hipernatremia	Diabetes insípida central o nefrogénica primaria o secundaria

Etiología de la diabetes insípida

La diabetes insípida central (DIC) es un disturbio extremadamente raro en veterinaria, estando asociado a la incapacidad total o parcial de la neurohipófisis en secretar ADH frente a estímulos como aumento de la osmolaridad o reducción del volumen circulante o la presión arterial. Esta incapacidad puede estar asociada a alteraciones congénitas o a lesiones/traumatismos adyacentes a las neuronas secretoras de la hormona. Sin embargo, en la mayor parte de las veces el origen del problema es idiopático. La DIC también es frecuentemente asociada a neoplasias hipofisarias (macroadenomas o tumores con más de 1 cm de diámetro) o a otras neoplasias intracraneanas en animales viejos. La ocurrencia de DIC es una complicación observada en poshipofisectomía (cirugía para retirada de tumores hipofisarios). En el caso de deficiencia parcial en la producción de ADH, una deficiente concentración de la orina será observada, aunque con menor volumen urinario y polidipsia de la que es observada frente a una DIC total. La diabetes insípida nefrogénica primaria (DINP) se refiere a una condición rara donde los túbulos renales no responden a la ADH, a pesar de esta ser secretada de forma normal. Esta alteración puede ser funcional o estructural, aunque ocurre insensibilidad del nefrón a los efectos antidiuréticos de la ADH. De forma general, este tipo de patología es congénita y puede estar asociada a la ausencia de receptores de ADH, presencia de receptores de ADH defectuosos, falta en la activación de los mensajeros intracelulares posactivación del receptor V2, hasta falla en los mecanismos de translocación de las acuaporinas a la membrana intracelular.

Diagnóstico de la diabetes insípida

La principal razón de la consulta sobre un perro con diabetes insípida (DI) es la incontrolable poliuria y polidipsia. La sed de esos pacientes es insaciable y los volúmenes de ingestión de agua y producción de orina son excesivamente elevados. Quejas de los propietarios con relación a la nicturia e incontinencia urinaria son comunes y, de una forma general, no hay otra queja o señal clínica excepto poliuria y polidipsia, una vez que los pacientes comúnmente se presentan activos y alertas. Empero, señales neurológicas pueden estar presentes derivadas de neoplasias hipofisarias o cerebrales que puedan estar comprimiendo otras estructuras además de la neurohipófisis, tales como andar en círculos,

desorientación, ceguera, comportamientos extraños, déficit en los nervios craneanos, entre otros. En los casos secundarios a traumatismos craneanos, secuelas del trauma pueden estar presentes. Señales clínicas de otras enfermedades asociadas a problemas hipofisarios como enanismo, hiperadrenocorticismo hipófisis-dependiente o acromegalia, pueden estar presentes y evidenciar indirectamente el origen del problema.

El diagnóstico de DI está basado en la exclusión de otras causas de poliuria y polidipsia. La gran mayoría de los animales presenta densidad urinaria inferior a 1,008 (hipostenuria). Algunos animales pueden presentar densidad un poco más elevada en los casos de DI parcial, consiguiendo concentrar un poco la orina, pero no se esperan valores superiores a 1,012 (isostenuria). Esto acontece porque frente a la deficiencia de ADH no ocurre concentración de la orina, fenómeno característico del nefrón distal, donde la ADH estimula la reabsorción de agua, pero no de solutos. De esta forma el ultrafiltrado presente en la luz tubular pierde agua para el intersticio y la concentración de los solutos en la luz del túbulo aumenta. Un organismo saludable reabsorbe a diario cerca de 98% del volumen diario filtrado, orinando solamente 1% a 2% de todo el volumen filtrado a lo largo de veinticuatro horas. Cerca de 30% de esta reabsorción ocurre en el nefrón distal por influencia de la ADH, y en la ausencia de esta hormona la deshidratación severa, coma y óbito son una cuestión de tiempo si no hay agua a disposición del individuo.

Tratamiento de la diabetes insípida

En animales con DIC, por lo general, la administración de ADH o sus análogos restablece la hipertonicidad medular y la capacidad de adecuada concentración de la orina. El acetato de desmopresina ha sido la droga de escogencia para esta terapia. La desmopresina está disponible en tres formas. La presentación oral en comprimidos de 0,1 a 0,2 mg, a pesar de tener concentración bastante superior a la preparación intranasal (5 µg/gota), es menos eficaz en el control de las señales clínicas. La preparación inyectable es eficaz administrada por vía subcutánea, pero su costo es hasta veinte veces superior a la preparación intranasal. A pesar de no ser propia para administración parenteral, la presentación intranasal, conteniendo 100 µg/mL, puede ser filtrada antes de la aplicación por vía subcutánea o de forma más simplificada y objetiva, puede ser aplicada vía sacoconjuntival, obteniendo una respuesta adecuada en la mayoría de los animales, reduciendo la ingestión de agua y la producción de orina en 50% o más. La administración diaria de la preparación intranasal por vía conjuntival en la dosis de 1-4 gotas cada doce o veinticuatro horas es suficiente para eliminar totalmente las señales de poliuria y polidipsia.

La desmopresina presenta una vida media de ocho a veinticuatro horas y es segura para uso en perros y gatos, a pesar de que la intoxicación por agua e hiponatremia pueden ocurrir durante el tratamiento. En el caso de administración una vez al día, la aplicación al atardecer puede prevenir la nicturia y garantizar buen control de la ingesta hídrica.

Pacientes con DINP pueden beneficiarse del uso de diuréticos tiazídicos. A pesar de parecer antagónico, este tipo de medicación provoca mayor reabsorción de sodio en el túbulo contorneado proximal y consecuentemente mayor reabsorción de agua. El resultado es la liberación de un volumen menor de fluido para el nefrón distal, lo que puede auxiliar en el control de la poliuria. El uso de clorotiazida en la dosis de 20-40 mg/kg cada doce horas o hidroclorotiazida (2,5-5,0 mg/kg cada doce horas) pueden ser útiles; sin embargo, algunos animales podrían no presentar respuesta a estas medicaciones. Restricción dietética de solutos urinarios (sodio, proteínas) puede reducir la carga de solutos que precisa ser excretada diariamente, reduciendo de manera indirecta el volumen urinario. Por cuestiones financieras muchas veces se puede optar por no tratar el paciente, desde que tenga acceso ininterrumpido al agua, una vez que la simple poliuria y polidipsia no representan en este caso un problema o riesgo a la salud del animal. En estos casos el paciente debe vivir en un patio o perrera higienizada, donde la poliuria no cause trastornos.

2.8 Alteraciones del equilibrio electrolítico

Para efectos de discusión conviene separar los desequilibrios hídricos de los electrolíticos. Sin embargo, en la práctica es más común observar la combinación de alteraciones hídricas, electrolíticas y ácido-básicas (**Tabla 2.4**). Los datos clinicopatológicos acostumbran a estar afectados no solo por los problemas primarios y sus respuestas compensatorias secundarias, sino también por la terapia aplicada. Es importante

considerar la presencia de disturbios renales, uso de diuréticos o drogas nefrotóxicas, consumo de agua y alimento, trastornos que impidan el consumo normal de agua (trastornos neurológicos, lesiones en la cabeza, el cuello, la boca, lengua o faringe), obstrucciones en el tracto gastrointestinal o, simplemente, errores de manejo (cañerías de agua quebradas o deficiencia de bebederos). También son importantes las causas de pérdidas de fluidos, como vómito, diarrea, poliuria, sudoresis excesiva por ejercicio en equinos, heridas y quemaduras.

Disturbios del sodio

Hipernatremia

La hipernatremia está casi siempre asociada a la elevación de la osmolaridad del plasma. Ocurre en animales deshidratados cuando las pérdidas de agua exceden las pérdidas de electrolitos, como en los siguientes casos: (a) estadios iniciales de vómito, diarrea y enfermedad renal; (b) quemaduras cutáneas: (c) causas iatrogénicas: uso exagerado de diuréticos, nutrición parenteral, administración de solución salina hipertónica o bicarbonato de sodio con restricción de agua de beber, intoxicación con sal combinada con falta de agua de bebida; (d) respiración jadeante por calor o ejercicio físico intenso; (e) diabetes insípida, si ocurre restricción de agua; (f) falta de agua de beber; (g) diabetes mellitus; (h) exceso de mineralocorticoides (hiperaldosteronismo por tumor adrenal).

El exceso de sodio en el plasma viene acompañado de aumento en el agua corporal, provocando una sobrehidratación isotónica que causa hipertensión y edema generalizado. El problema primario, en esos casos, es la retención de sodio. Secundariamente, el exceso de agua retenida o ingerida para diluir el sodio resultará en problemas tales como insuficiencia cardiaca congestiva, hipoalbuminemia y fibrosis hepática. Antes de que el edema sea visible debe ocurrir una expansión del volumen extracelular de por lo menos 30%. La terapia de fluidos con sodio en pacientes con daño renal es causa iatrogénica de hipernatremia que puede llevar a edema. La intoxicación con sal puede acontecer en animales que pastan cerca a pantanos de agua salobre o en alimentos contaminados, siempre que no se suministre agua dulce. En la intoxicación con sodio aparecen señales neurológicas debido al edema de la corteza cerebral por aumento del fluido cerebro-espinal, cuadro más observado en porcinos. Otras señales observadas son debilidad, letargo, sed, irritabilidad, depresión, ataxia, mioclono y coma. Esas señales aparecen cuando la concentración plasmática de sodio alcanza niveles superiores a 170 mmol/L (valor de referencia: 132-155 mmol/L) y son debidos a la deshidratación neuronal (el agua se desplaza al espacio extracelular).

La determinación de sodio plasmático ayuda en el diagnóstico. La orina también da información valiosa: la densidad urinaria puede estar aumentada (mayor que 1,035) porque la hipernatremia causa liberación de ADH, que aumenta la reabsorción tubular de agua, concentrando así la orina.

El tratamiento de la hipernatremia envuelve la corrección de la causa primaria y, eventualmente, el uso de soluciones hipotónicas de NaCl (0,45%) + dextrosa 2,5%, de forma lenta para evitar la muerte por edema cerebral (manifestado por convulsiones). El edema cerebral ocurre por translocación del fluido extracelular al interior de las neuronas cuando la administración de fluido es rápida. El objetivo del tratamiento es restaurar el volumen extracelular en la hipernatremia con deshidratación severa, pudiendo usarse solución salina (0,9%) para expandir el volumen plasmático. La medición de sodio en el plasma es útil para evaluar el éxito del tratamiento: si la hipernatremia persiste, puede ser calculado el déficit de agua a través de la siguiente fórmula:

$$D = 0{,}6 \times PC \times [1 - (Na^{+}d / Na^{+}p)]$$

Donde D corresponde al déficit de agua (L), PC corresponde al peso corporal (kg), $Na^{+}d$ corresponde a la concentración de sodio (mmol/L) deseada y $Na^{+}p$ a la concentración de sodio presente. De cualquier forma, la corrección oral es preferible en caso de déficit de agua, cuando sea posible.

Hiponatremia

El sodio disponible está localizado en el espacio extracelular, el cual contiene aproximadamente 2/3 del sodio del cuerpo. Lo restante de sodio está en los huesos de forma no disponible. Una falsa hiponatremia puede ocurrir en cuadros de hiperlipidemia o de hiperproteinemia. Lípidos y proteínas, cuando están en altas cantidades, ocupan un espacio significativo en el plasma. Una vez que la medición de los electrolitos es

hecha en la fracción acuosa del plasma, en esos casos, a pesar de que la cantidad total de sodio sea normal relativamente al volumen de plasma, su concentración aparecerá disminuida. De la misma forma, se observa falsa hiponatremia en la hiperglucemia, pues la glucosa en exceso provoca aumento en la osmolaridad del plasma e induce el desplazamiento de agua del espacio intracelular al plasmático, diluyéndolo. El sodio plasmático disminuye 1,6 mmol/L por cada aumento de 100 mg/dL en la concentración de glucosa.

Los cambios en el equilibrio hídrico son los principales responsables de los cambios en la concentración de sodio. Así, la hiponatremia (sodio menor que 140 mmol/L) puede ser considerada como un exceso relativo de agua. Entre las causas de hiponatremia están: (a) pérdidas en el volumen efectivo circulante: en este caso, inicialmente ocurre hipernatremia cuando hay pérdida significativa de agua debido a vómito, diarrea, sudoresis excesiva (equinos), dermatitis exfoliante, quemaduras, terapia diurética o insuficiencia adrenal (baja aldosterona). Sin embargo, la deshidratación induce respuestas neurohormonales que resultan en aumento del consumo de agua, vía aumento de la sed y la conservación renal de agua, resultando en hiponatremia compensatoria; (b) hemorragias compensadas por aumento en el consumo de agua; (c) secuestro de fluidos que contengan sodio en cavidades como resultado de ascitis, peritonitis, obstrucción intestinal, efusión pleural o ruptura de vejiga; (d) ingestión excesiva de agua debido a problemas psicogénicos (polidipsia primaria); (e) enfermedad renal con deficiente reabsorción de Na^+; (f) deficiente secreción de vasopresina (ADH), lo cual impide la reabsorción de agua y de Na^+.

Conocer la concentración de sodio en la orina es útil para ayudar a diferenciar los varios tipos de hiponatremia. En los casos de pérdidas de fluidos, como en la diarrea y el vómito, la respuesta renal compensatoria mantiene una adecuada reabsorción de sodio y la orina tiene baja concentración de sodio. En la insuficiencia adrenal la disminución de aldosterona provoca reducción en la reabsorción de sodio y en la excreción de potasio, ocurriendo hiponatremia con hipercalemia, al tiempo que la orina tiene concentración de sodio elevada. En la deficiencia de vasopresina la hiponatremia viene acompañada de altos niveles de sodio en la orina, pues no ocurre reabsorción. En la polidipsia psicogénica la hiponatremia está acompañada de orina con baja concentración de sodio.

La hiponatremia puede causar señales clínicas como anorexia, letargo, taquicardia, trastornos musculares (mioclonos, calambres y convulsiones). En casos de hiponatremia con volumen circulante disminuido, una alta concentración de sodio en la orina puede indicar insuficiencia renal, mientras que un sodio urinario bajo puede revelar pérdida de sodio por vómito, diarrea, hemorragias o quemaduras. En casos de hiponatremia con volumen circulante normal, un sodio urinario bajo puede indicar polidipsia primaria, y sodio urinario aumentado puede indicar problemas de ADH o falla renal.

La deficiencia de sodio es rara en la dieta normal de los animales monogástricos, pues la suplementación con sal es una práctica común. En los rumiantes, en función de los vegetales ser bajos en sodio, puede eventualmente presentarse deficiencia. En vacas lactantes de alta producción ocurren pérdidas de sodio en la leche y, en dietas bajas de sal, puede acontecer deficiencia de sodio con hiponatremia. En las mastitis también aumentan las pérdidas de sodio en la leche.

El tratamiento de la hiponatremia comprende fluidoterapia con soluciones isotónicas de NaCl (0,9 %) en cantidad que permita reponer una concentración plasmática de sodio de 130 mmol/L o una osmolalidad mayor que 290 mOsm/kg. La medición de sodio en el plasma permitiría adecuar la cantidad de sodio a suministrar mediante la siguiente fórmula:

$$Q_{Na} = 0,6 \times PC \times D_{Na}$$

Donde Q_{Na} es la cantidad de sodio a ser repuesta (mmol), PC es el peso corporal (kg) y D_{Na} es el déficit de sodio (mmol/L). El tipo de fluido usado va a depender de la causa y la severidad de la hiponatremia: en casos severos, solución salina (0,9 %) y, en casos moderados, solución de Ringer o Ringer lactato. El cálculo de la osmolalidad del plasma es útil para diferenciar hiponatremia falsa o verdadera, utilizando la siguiente fórmula (valores en mmol/L):

$$\text{Osmolaridad plasma (mOsm/kg)} = (2 \times [Na]) + [\text{glucosa}] + [\text{urea}]$$

En la hiponatremia verdadera, la osmolalidad es menor que 280 mOsm/kg (valor de referencia: 290-310).

Disturbios del potasio

Aproximadamente el 95 % del potasio disponible está en el espacio intracelular. La relación $K^+_{intracelular}/K^+_{extracelular}$ es mantenida mediante la bomba Na-K ATPasa, la cual permite la salida de sodio y la entrada de potasio en las células. Ese equilibrio mantiene la excitabilidad neuromuscular y cardiaca mediante la manutención del potencial de membrana de las células. Las alteraciones en la concentración de potasio tienen profundos efectos neuromusculares causados por cambios en el potencial de membrana de las células. En general, la hipocalemia (disminución de la concentración plasmática de potasio) aumenta el potencial de membrana, produciendo un bloqueo por hiperpolarización que resulta en debilidad muscular y parálisis. En la hipercalemia (aumento de la concentración plasmática de potasio) disminuye el potencial de membrana, causando hiperexcitabilidad.

La concentración de potasio en el plasma (referencia: 3,5-5,5 mmol/L) puede revelar tanto factores internos de equilibrio del potasio a través de las membranas celulares entre los fluidos extra- e intracelulares, como factores externos de equilibrio entre el consumo y la excreción de potasio. Sin embargo, las respuestas compensatorias a los cambios en el volumen circulatorio y el equilibrio ácido-básico pueden mostrar cuadros confusos y hasta contradictorios. Por ejemplo, en el caso de terneros con diarrea aguda existe pérdida de fluidos y electrolitos, entre ellos el potasio; sin embargo, la concentración plasmática de potasio en esos animales puede estar normal o hasta aumentada, como resultado de la deshidratación y la acidosis, a su vez causadas por la pérdida de sodio y la deficiencia renal para excretar H^+. El aumento de H^+ provoca acidosis, habiendo una tendencia a que el H^+ en exceso entre al espacio intracelular con la equivalente salida de K^+, el cual es movilizado al espacio extracelular. El tratamiento en esos animales incluye terapia de fluidos y electrolitos (Na^+, K^+), aunque la concentración de potasio esté normal o elevada, pues la interpretación clínica debe evaluar el consumo y las pérdidas de fluidos, así como el estado renal y el equilibrio ácido-básico.

Hipercalemia

Puede ser observada una falsa hipercalemia en muestras hemolizadas, especialmente en especies con alta concentración de potasio en los eritrocitos (vaca, caballo, cerdo, oveja). Se considera hipercalemia cuando la concentración de potasio plasmático es mayor que 5,5 mmol/L. Las causas de hipercalemia se pueden agrupar en:

(a) Translocación de potasio entre espacios: acidosis metabólica o respiratoria, deficiencia de insulina, drogas beta-bloqueadoras (propanolol).

(b) Comprometimiento de la excreción renal de potasio: falla renal aguda, insuficiencia renal crónica, hipoadrenocorticismo, obstrucción uretral, ruptura de vejiga.

(c) Iatrogénicas: fluidoterapia con potasio en exceso o en pacientes con función renal comprometida, diuréticos ahorradores de potasio, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (enalapril, cartopril), inhibidores de las prostaglandinas (indometacina), digitálicos, agonistas alfa-adrenérgicos (fenilpropanolamina).

(d) Comprometimiento muscular: necrosis de tejidos, lesiones musculares, ejercicio exagerado.

En la hipercalemia se observan arritmias cardiacas y debilidad muscular. El aumento de potasio causa disminución del potencial de la membrana muscular, afectando su repolarización y disminuyendo la excitabilidad del músculo. La medición de potasio en el plasma (valor de referencia: 3,8-5,0 mmol/L) y el electrocardiograma ayudan en el diagnóstico.

El tratamiento de la hipercalemia (cuando potasio plasmático mayor que 7 mmol/L), además de revisar la causa primaria, envuelve fluidoterapia adicional, dependiendo de la causa. Así, en acidosis puede suministrarse solución de bicarbonato de sodio y en la obstrucción urinaria se recomienda aplicar insulina (0,5 U/kg) y solución de glucosa 5 %.

Hipocalemia

La hipocalemia es relativamente frecuente en los animales domésticos como resultado de la pérdida de los depósitos de potasio o la redistribución de potasio entre los espacios extra- e intracelulares. Se configura cuando la concentración plasmática de potasio es menor que 3,5 mmol/L. Entre las principales causas de hipocalemia están: (a) pérdidas de origen gastrointestinal por vómito

y diarrea; (b) pérdidas renales por alteración de la función tubular; (c) deficiencia de potasio en la dieta, la cual es rara pues el potasio está en concentración relativamente alta en los alimentos para animales, pero la compensación renal ante una deficiencia alimentaria o pérdida de potasio no es muy eficiente; (d) movimiento de potasio del espacio extracelular al intracelular en alcalosis aguda: el H^+ intracelular tiende a salir de las células para compensar, debiendo entrar potasio para mantener el potencial de membrana; (e) uso exagerado de diuréticos; (f) exceso de mineralocorticoides (hiperadrenocorticismo); (g) tratamiento inadecuado de insulina en pacientes diabéticos.

Una falsa hipocalemia puede ocurrir en hiperlipidemia, hiperproteinemia, hiperglucemia y azotemia, principalmente en mediciones por método seco. La hipocalemia puede causar, además del aumento en el potencial de membrana, disminución en el volumen intracelular y acidificación del pH intracelular, por la entrada de H^+ para compensar la salida de K^+. También hay alteraciones de la actividad de enzimas dependientes de K^+. Las señales clínicas incluyen debilidad muscular, arritmias cardiacas, rabdomiólisis, alteraciones renales (poliuria) y calambres. En miopatía hipocalémica hay aumento de la actividad de creatina quinasa (CK) plasmática.

El tratamiento de la hipocalemia envuelve la corrección de la causa primaria y, eventualmente, corrección con soluciones de KCl (varían de 7,5% a 20%) administradas de forma muy lenta para evitar arritmia cardiaca. El tratamiento con fluidos es indicado cuando la concentración de potasio en el plasma es menor que 3 mmol/L o dependiendo de las señales clínicas. La medición de potasio plasmático ayuda a determinar la cantidad de KCl a ser suministrada, la cual no debe exceder 0,5 mmol/kg/hora. La suplementación oral de potasio es preferible cuando sea posible. El banano es una buena fuente de potasio.

Disturbios del cloro

Entre las causas de las alteraciones de la concentración de cloro están aquellas asociadas al sodio, en función de la estrecha relación de esos dos electrolitos. Sin embargo, existen alteraciones en el cloro independientes de los niveles de sodio, las cuales están relacionadas con el equilibrio ácido-básico.

Hipercloremia

La hipercloremia (exceso de concentración plasmática de cloro) con aumento proporcional de sodio es observada en la deshidratación. La hipercloremia sin aumento proporcional de sodio es observada en la acidosis metabólica y en la alcalosis respiratoria compensada. Para entender esas alteraciones del cloro se debe considerar que su concentración varía inversamente con la concentración de bicarbonato (HCO_3^-). Así, en la alcalosis respiratoria hay disminución de la pCO_2 y la compensación incluye la excreción renal de bicarbonato, la cual está asociada con el aumento de la reabsorción de cloro. La acidosis metabólica hiperclorémica puede estar asociada con diferencia aniónica normal o baja y puede ser vista como respuesta compensatoria a una alcalosis respiratoria primaria.

Hipocloremia

Casos de hipocloremia con disminución simultánea de sodio son observados en la sobrehidratación. Cuando no hay disminución proporcional en la concentración de sodio la hipocloremia está asociada a una alcalosis metabólica (el aumento de bicarbonato se relaciona con disminución de cloro) o a la compensación de una acidosis respiratoria. En la acidosis respiratoria hay aumento de la pCO_2, y la compensación es hecha por el aumento de la retención de bicarbonato, con pérdida de cloro.

2.9 Alteraciones del equilibrio ácido-básico

Las alteraciones ácido-básicas de la sangre pueden ser consecuencia de uno de cuatro posibles estados: acidosis respiratoria, acidosis metabólica, alcalosis respiratoria y alcalosis metabólica. El principal ácido de la sangre está representado por el CO_2, y la base principal por el bicarbonato (HCO_3^-). La acidosis puede ser un exceso de ácido o una deficiencia de base, mientras que la alcalosis puede ser por exceso de base o por deficiencia de ácido. Las principales alteraciones del equilibrio ácido-básico, los respectivos parámetros alterados y las respuestas compensatorias, se muestran en la **Tabla 2.7**.

Tabla 2.7 Desequilibrios ácido-básicos y respuestas compensatorias

Parámetro	Valor de referencia	Acidosis				Alcalosis			
		Metabólica		Respiratoria		Metabólica		Respiratoria	
		NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
pH	7,40	↓	=	↓	=	↑	=	↑	=
$[HCO_3^-] / [CO_2]$	20	↓	=	↓	=	↑	=	↑	=
$[HCO_3^-]$ (mmol/L)	24-27	⬇	⬇	=	⇧	⬆	⬆	=	⇩
pCO_2 (mmHg)	40	=	⇩	⬆	⬆	=	⇧	⬇	⬇

Las flechas indican los aumentos (↑) o las disminuciones (↓) en los respectivos parámetros. Aquellos no alterados se indican por (=). Las flechas correspondientes a los parámetros alterados por la causa primaria de trastorno ácido-básico se indican por (⬇) o (⬆), mientras que las correspondientes a las respuestas compensatorias se indican por (⇩) o (⇧). NC: no compensada; C: compensada.

Acidosis metabólica

La acidosis metabólica es el problema más frecuente de desequilibrio ácido-básico en veterinaria y está caracterizada por la disminución del pH y la concentración de HCO_3^-. Puede ser causada por aumento de iones H^+ o por la pérdida de bicarbonato. Entre las principales causas se pueden contar:

- Acumulación de ácido láctico en casos de ejercicio exagerado o estados hipóxicos (incluyendo anemia).
- Aumento de cuerpos cetónicos (ácidos acetoacético y betahidroxibutírico) en ayuno prolongado, diabetes mellitus, cetosis de vacas en lactación o toxemia de la gestación en ovejas y cabras con gestación doble avanzada.
- Pérdida de HCO_3^- debida a fallas renales que lleven a una menor capacidad para su reabsorción o para la excreción de H^+.
- Pérdida de HCO_3^- en diarrea severa.
- Ingestión de salicilatos, paraldehído, metanol o etilenoglicol.

En rumiantes es frecuente la presentación de acidosis láctica ocasionada por la rápida fermentación de glúcidos solubles (concentrados) ingeridos súbitamente por animales adaptados o no. La producción de lactato en el rumen puede aumentar más de doscientas veces comparada con dietas de pasto. El pH del rumen puede caer del valor fisiológico (6,0-7,0) a valores inferiores a 5,0. En condiciones experimentales el pH de la sangre venosa puede disminuir de 7,35 a 7,0, agotando la reserva de bicarbonato, que puede pasar de 25 a 10 mM.

Endógenamente, el lactato puede surgir de cuadros que llevan a desencadenar procesos fermentativos anaeróbicos para la producción de energía. En el choque hipovolémico debido a un avanzado cuadro de deshidratación, como acontece en las diarreas intensas, en especial en neonatos, el organismo disminuye la circulación sanguínea periférica para órganos no vitales (musculatura y piel), generando ácido láctico en exceso. Otra situación que puede llevar a un cuadro moderado de acidosis láctica es la intoxicación por amonio (urea), ya que afecta la eficiencia del ciclo de Krebs, aumentando la fermentación anaeróbica.

La menor eliminación de iones H^+ por los riñones, como ocurre en ciertas lesiones tubulares o en la deshidratación, colabora decididamente en la instalación de acidosis metabólica. Cuadros diarreicos agudos causan pérdida considerable de bicarbonato. Además de bicarbonato y otros electrolitos importantes, como sodio, potasio y cloro, las heces diarreicas causan pérdida de agua en el organismo que invariablemente provocan deshidratación. Animales con lesiones bucales crónicas que cursan con sialorrea continuada pueden tener acidosis metabólica por pérdida de bicarbonato salivar.

El cuadro clínico resultante de una acidosis metabólica es muy variable de acuerdo con la causa primaria. En general, ocurre depresión, apatía y menor

respuesta a los estímulos. En los cuadros iniciales el animal tiende a elevar la frecuencia respiratoria. Toda vez que disminuye el pH sanguíneo, existe un estímulo en el centro respiratorio para aumentar la ventilación, incrementando la frecuencia respiratoria. Sin embargo, cuando la acidosis metabólica es muy intensa (pH menor que 7,1) el centro respiratorio es inhibido, desencadenando una hipoventilación que muchas veces antecede a la muerte.

Respuesta compensatoria en la acidosis metabólica

El inicio de una respuesta compensatoria a una acidosis metabólica es hecho por los sistemas *buffer* extracelulares, especialmente el *buffer* bicarbonato. Los sistemas *buffer* intracelulares (proteínas y fosfato) también contribuyen en el proceso de tamponamiento. El efecto compensatorio rápido es realizado por el pulmón. La disminución del pH es captada por los quimiorreceptores de los grandes vasos, estimulando una hiperventilación que causa disminución de la pCO_2 (de 40 a 15 mmHg). Este efecto, no obstante, es de corta duración y el efecto compensatorio a largo plazo requiere la acción del riñón, que responde aumentando la excreción de iones H^+ por la orina, volviéndola ácida y aumentando la reabsorción de bicarbonato por los túbulos renales. La compensación de una acidosis metabólica puede estar comprometida en mal funcionamiento renal.

En la acidosis el exceso de H^+ extracelular invade al espacio intracelular, desplazando el K^+ de adentro para fuera de la célula (intercambio catiónico). Este evento ayuda a prevenir el aumento excesivo de H^+ extracelular. Ese intercambio puede causar hipercalemia, aunque las reservas de potasio en el organismo estén disminuidas debido a pérdidas en el riñón o en el intestino. Para una identificación de acidosis metabólica es útil el cálculo del *anion gap*, el cual puede estar normal en casos de acumulación de cloro como efecto compensatorio (diarrea) o aumentado por acumulación de ácidos orgánicos (cetosis, acidosis ruminal, insuficiencia renal, deshidratación o choque).

Tratamiento de la acidosis metabólica

El animal solamente debe ser tratado en condiciones extremas de pH sanguíneo (menor que 7,2) y siempre se debe observar la causa primaria del problema. En la mayoría de los casos este cuadro viene acompañado de deshidratación, de forma que el clínico debe decidir si el estado de deshidratación es más grave que el desequilibrio ácido-básico para adoptar medidas. Como en la acidosis metabólica ocurre pérdida de bicarbonato o aumento de ácidos orgánicos, es necesario administrar sustancias alcalinizantes. En la determinación del estado ácido-básico el valor del exceso de base (EB) sirve para implementar la terapia con bicarbonato de sodio a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de } NaHCO_3 \text{ (mmol)} = \text{peso corporal (kg)} \times 0{,}3 \times \text{EB (mmol/L)}$$

La cantidad infundida debe ser suficiente para elevar el pH de la sangre hasta un mínimo de 7,25. En el cálculo, el valor 0,3 corresponde al líquido extracelular (20% del volumen total) más 10% por causa del intercambio entre los líquidos extra- e intracelulares (LIC y LEC). No es adecuado calcular con base en el agua corporal total (60%), porque el intercambio entre LIC y LEC es lento y acarrearía una sobredosis. Es más seguro administrar la mitad de la dosis calculada y monitorear los valores de CO_2 y pH de la sangre. Si el tratamiento es eficiente, no es necesario continuar la terapia con bicarbonato. En este caso, se prefiere que el paciente mismo normalice el desequilibrio.

Acidosis respiratoria

La acidosis respiratoria está caracterizada por disminución del pH y aumento en la pCO_2. Ocurre debido a una hipoventilación pulmonar que lleva a la acumulación de CO_2 en la sangre. Esa hipoventilación puede ser ocasionada por dos tipos de problemas básicos. El más común hace referencia al bloqueo de los mecanismos respiratorios que provocan fallas en el intercambio de gases en los alvéolos, tales como en las siguientes situaciones: obstrucciones del tracto respiratorio, neumonía, neumotórax, enfisema, edema pulmonar, hemotórax, hidrotórax, botulismo, drogas (organoclorados, organofosforados), fracturas en las costillas.

La segunda causa es por depresión del sistema nervioso central (centro respiratorio) en casos de trastornos neuromusculares, infecciones, traumatismos, drogas (anestésicos), tóxicos e inhalación de CO_2 en exceso (menos común en animales). De especial

importancia es la anestesia general con agentes volátiles en sistema cerrado. En estos casos la pO_2 mantiene niveles elevados, aunque si la absorción de CO_2 en el sistema de anestesia es ineficiente hay acumulación de este gas con consecuente acidosis respiratoria.

Respuesta compensatoria en la acidosis respiratoria

A corto plazo la respuesta compensatoria en la acidosis respiratoria es inoperante debido al comprometimiento pulmonar, siendo, por tanto, dependiente de los mecanismos compensatorios renales a largo plazo. Esta respuesta compensatoria será hecha mediante la retención de HCO_3^- y el aumento de la excreción de H^+. En estos casos no es aconsejable suministrar bicarbonato exógeno, pues será excretado sin afectar la concentración final de HCO_3^- sanguíneo. El aumento de la pCO_2 en el plasma causa vasodilatación, aumentando el flujo sanguíneo cerebral y causando señales neurológicas (letargo). Valores superiores a 70 mmHg de CO_2 causan narcosis. También puede ocurrir taquicardia, sudoresis, aumento de la temperatura corporal, vasodilatación periférica y arritmia. Animales con acidosis respiratoria muchas veces asumen actitud ortopneica, con el cuello distendido, los miembros anteriores y la nariz bien abiertas, que puede estar acompañada de disnea, respiración superficial y taquipnea. En algunas situaciones puede ser verificada congestión o cianosis de las mucosas.

Tratamiento de la acidosis respiratoria

Para el tratamiento se debe considerar la causa primaria. Los casos de trastornos respiratorios crónicos son complicados, debido a que pueden ser irreversibles. En casos de neumonías o de obstrucciones del tracto respiratorio pueden ser usados broncodilatadores y antibióticos. Convulsiones y arritmias cardíacas son complicaciones de las modificaciones rápidas de la pCO_2. La hiperventilación debe ser usada apenas en casos agudos, para no inhibir el estímulo de la hipoxia. Nunca se debe usar bicarbonato en tratamiento de acidosis respiratoria, ya que puede elevar la pCO_2 y causar narcosis (por desplazamiento de la reacción $H^+ + HCO_3^- \rightarrow CO_2$). En algunos casos puede ocurrir acidosis metabólica concomitante, debido a la menor oxigenación en los tejidos periféricos y formación de ácido láctico, por lo tanto deben ser tratados con pequeña cantidad de *buffer*.

Alcalosis metabólica

La alcalosis metabólica se caracteriza por elevación del pH y de la concentración de bicarbonato. En rumiantes este cuadro se presenta asociado a disturbios digestivos con pérdida excesiva de líquidos, como en el secuestro de fluidos en los preestómagos, administración oral de bicarbonato de sodio en exceso (usado como tamponante ruminal), intoxicación con urea, o desplazamiento de abomaso. En otros animales puede ser debido a: ingestión excesiva de álcalis, como en el uso excesivo de bicarbonato de sodio como antiácido, pérdida anormal de ácido en el vómito prolongado (pérdida de HCl), administración de diuréticos (pérdida de ácido en la orina), pérdida renal de H^+ asociada con exceso de mineralocorticoides o bajo consumo de cloro. La administración excesiva de bicarbonato puede ser causa de alcalosis metabólica, especialmente cuando hay déficit en el volumen efectivo circulante o déficit de potasio o de cloro, casos en los cuales el bicarbonato no podrá ser excretado por el riñón de forma normal, creando condiciones para la manutención de la alcalosis. La disminución del volumen efectivo circulante favorece la manutención de la alcalosis, pues en la hipovolemia ocurre liberación de aldosterona con aumento de la reabsorción de Na^+ para ayudar al restablecimiento del volumen plasmático normal. La manutención de la electroneutralidad requiere que la reabsorción de Na^+ en los túbulos distales esté asociada con la secreción de un catión, generalmente H^+, o en menor cantidad, K^+. Una vez que la excreción renal de H^+ está directamente relacionada con la reabsorción de bicarbonato, no sería posible la eliminación del bicarbonato en exceso, tendiendo la alcalosis a continuar al tiempo que la orina recibe más H^+. Esta es la razón de la llamada 'orina paradójica', una orina ácida producida por pacientes con alcalosis metabólica e hipovolemia.

La hipocalemia también contribuye a la manutención de la alcalosis metabólica. En la hipocalemia ocurre aumento de la concentración intracelular de iones H^+ (que entran para mantener el equilibrio electrolítico intracelular). Con ello, el aumento de H^+ en el interior de las células tubulares renales provoca aumento en la excreción de H^+ y, por consiguiente, en la reabsorción de bicarbonato.

Respuesta compensatoria en la alcalosis metabólica

La respuesta compensatoria en la alcalosis metabólica es realizada por el pulmón, reduciendo la tasa de ventilación. Este efecto es controlado por los quimiorreceptores del centro respiratorio y de los cuerpos carotídeos, los cuales captan el valor elevado de pH, con el efecto final de aumento de la pCO_2 (de 40 a 55 mmHg). El cuadro clínico es muy variable, depende del grado de alcalosis, y puede ocurrir oligopnea y respiración superficial, depresión e intensa apatía.

Tratamiento de la alcalosis metabólica

Debe ser tratada la causa primaria para no perpetuar la descompensación de la alcalosis. Solución salina (NaCl 0,9 %) ayuda en la expansión del plasma y puede disminuir el pH. En casos de hipocalemia, acrecentar cloruro de potasio en las soluciones intravenosas. A diferencia de la acidosis metabólica, la alcalosis tiene un pronóstico más reservado, pues el organismo cuenta con mecanismos compensatorios menos eficientes para la autocorrección del problema y la terapia da resultados más inciertos. Deben ser utilizadas en la corrección de la alcalosis soluciones de sales que contengan aniones tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio o cloruro de amonio. Estas dos últimas sales tienen el inconveniente de traer efectos colaterales si se aplican en exceso. Así, se recomienda la aplicación de 100 a 150 mL/kg de peso corporal de solución isotónica de cloruro de sodio (0,9 %). En casos de alcalosis metabólica causada por intoxicación iatrogénica por bicarbonato, ocurre elevación del pH urinario, que puede llegar a 9,2 debido a la mayor eliminación renal de bicarbonato. En casos de alcalosis metabólica con hipovolemia la presentación de orina paradójica puede ocurrir hasta cuatro días después del tratamiento. En esos casos, aunque el pH sanguíneo esté aumentado, el pH urinario puede estar todavía ácido, alcanzando hasta 5,4.

Alcalosis respiratoria

La alcalosis respiratoria es caracterizada por aumento en el pH y disminución de la pCO_2, la cual puede caer del valor normal de 40 mmHg hasta 20 mmHg o menos. Puede ser debida a hiperventilación pulmonar en los siguientes casos: compensación respiratoria en hipoxemia asociada con disturbios pulmonares, como los que ocasionan la acidosis respiratoria (fallas cardiacas o anemias severas), disturbios psicogénicos o neurológicos que estimulan el centro respiratorio de la médula, fiebre (septicemia), intoxicación por salicilato, ventilación artificial exagerada, ansiedad, dolor intenso, estrés, sobrecalentamiento en perros, gatos y otros animales que no sudan y utilizan la ventilación pulmonar como forma de perder calor, anhidrosis en equinos, disminución de la presión atmosférica (baja pO_2) como la observada a grandes altitudes (arriba de 3.000 m s.n.m.).

Respuesta compensatoria en la alcalosis respiratoria

El inicio de la respuesta compensatoria en la alcalosis respiratoria se realiza a través del tamponamiento por el sistema bicarbonato (hay desplazamiento de HCO_3^- para la formación de CO_2). El efecto compensatorio posterior es realizado por el riñón, donde ocurrirá disminución tanto de la excreción de H^+ como de la reabsorción de HCO_3^-. La disminución en la concentración plasmática del bicarbonato es equilibrada por el aumento en la retención de cloro para mantener la electroneutralidad, lo cual lleva a una hipercloremia de compensación. La hipercloremia también puede ser observada en la acidosis metabólica compensada, pues la concentración de cloro tiende a variar inversamente con la concentración de bicarbonato. El límite de compensación renal en la alcalosis respiratoria se alcanza cuando la concentración de bicarbonato llega a 12 mmol/L (valor de referencia: 20 a 25 mmol/L).

Tratamiento de la alcalosis respiratoria

La causa primaria debe ser tratada. En calor excesivo, reducir la temperatura corporal; en lesiones del SNC se recomienda oxigenoterapia; en casos de ansiedad y dolor, intentar tranquilizantes y analgésicos. En el caso de hiperventilación el animal debe ser tratado con un sedativo que disminuya la frecuencia respiratoria. Además, se recomienda colocar al animal temporalmente en un ambiente cerrado con poca renovación de aire y rico en CO_2 para aumentar los valores de este gas en la sangre.

Acidosis láctica ruminal

Por errores en el manejo alimentario de rumiantes se presenta la acidosis ruminal clínica, ya que se

consumen fuentes de carbohidratos rápidamente fermentables, las cuales llevan a un aumento súbito de la concentración ruminal de ácido láctico, rápida disminución del pH ruminal y, si no es tratado, muerte del animal en veinticuatro horas. El nombre SARA (acidosis ruminal subaguda) fue propuesto por Garrett *et al*. (1998) para describir un conjunto de señales asociadas con situaciones ocurridas en el rumen y que usualmente son derivadas del manejo alimentario en animales, al consumir altas cantidades de granos. Por lo general las señales clínicas del trastorno no son aparentes y sus consecuencias aparecen tiempo después de haber ocurrido el disturbio. Además, la SARA constituye un problema en el rebaño, al ser responsable de significativas pérdidas económicas.

La acidosis ruminal aguda es un trastorno que ataca sobre todo a vacas lecheras de alta producción o novillos en fase final de engorde. Las necesidades de energía para la producción de leche o carne precisan de una fuente alimentaria adicional que, cuando es ofrecida de manera súbita o en exceso puede llevar a acidosis. La causa principal de la SARA es el cambio súbito en el patrón alimentario normal de los rumiantes. La disminución en el consumo de fibra, junto al consumo de glúcidos rápidamente fermentables (GRF), genera un profundo disturbio en la población bacteriana ruminal que, a su vez, altera la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGV). Así, cuando los cambios ocurren, la producción de AGV sube y el pH cae. El valor límite de pH considerado de riesgo es 5,5. Por debajo de ese valor las señales clínicas se hacen evidentes. Es frecuente que la SARA se presente en animales con bajo consumo de fibra o cuando hay cambios en el sistema alimentario sin que haya ocurrido un periodo previo de adaptación, en especial al comienzo de la lactación o cuando ocurre mezcla inadecuada en los sistemas con ración totalmente mezclada (RTM).

Dos son las alteraciones principales que ocasionan el problema: en primer lugar, la rápida fermentación de los glúcidos, que afecta la población de bacterias celulolíticas por causa de la merma del pH. En pH menor que 5,5 la flora bacteriana del rumen se vuelve amilolítica, los protozoarios mueren y su función de disminuir la cantidad de almidón en el rumen se pierde. Adicionalmente, el *Streptococcus bovis* prolifera, afectando otras cepas de la microflora ruminal necesarias para mantener todas las funciones ruminales. En segundo lugar, ocurre pérdida de la estructura de las papilas ruminales por la acción conjunta del bajo pH, las endotoxinas y las sustancias inflamatorias liberadas. Con la pérdida de las papilas la capacidad para absorber los AGV disminuye.

La acidosis ruminal clínica o subclínica puede acometer cualquier rebaño que utiliza en la dieta grandes cantidades de concentrado rico en carbohidratos fácilmente degradables. La forma subclínica del trastorno acostumbra acometer un porcentaje mayor de los rebaños confinados (en torno del 20 %), cuando se compara con la forma clínica (5 %), porque en la forma subclínica las señales clínicas no son evidentes, lo que dificulta el diagnóstico. La cantidad de alimento necesaria para desarrollar la acidosis ruminal es variable: depende de la capacidad de adaptar la flora ruminal de cada animal, la velocidad de fermentación del concentrado ofrecido y la cantidad ingerida por el animal; la forma clínica puede tener una morbilidad variable de 10 % a 50 %, y mortalidad de hasta el 90 % de los animales no tratados, mientras que en los tratados el porcentaje disminuye a 30 % a 40 %.

Al inicio, un aumento en la concentración de carbohidratos altamente degradables asociado con la reducción de fibra en la dieta propicia un ambiente adecuado para el crecimiento de bacterias Gram-positivas productoras de ácido láctico (*Streptococcus bovis* y *Lactobacillus* sp.). En condiciones fisiológicas, el ácido láctico en el fluido ruminal es un intermediario minoritario del metabolismo, siendo metabolizado en el rumen, principalmente por la bacteria *Megasphera eldesnii*. En la acidosis ruminal subclínica ocurre aumento en la población de *Streptococcus bovis*, el pH del fluido ruminal queda menor de 6,0, lo cual compromete la viabilidad de los protozoarios y se inhibe la degradación de la celulosa, pues las bacterias celulolíticas tienen el pH ideal para crecimiento en torno de 6,7, y se favorece la multiplicación de las bacterias amilolíticas. En la mayoría de los casos los animales todavía no presentan señales clínicas evidentes y pasan desapercibidos. El rumen del animal puede retornar al pH fisiológico horas después, sin tratamiento, dependiendo del alimento disponible. En la forma subclínica, por ejemplo, el animal disminuye la ingestión de materia seca (IMS), y por consecuencia disminuye la fermentación ruminal y aumenta el pH ruminal, pero esto puede no ocurrir si el animal ingirió grandes cantidades de carbohidratos.

La forma clínica ocurre por lo general cuando el animal recibe abruptamente grandes cantidades de

concentrado muy degradable. Cuando aumenta su concentración sin previa adaptación, se desencadena un cuadro más agudo. Al comienzo la patogenia es de la misma forma que la subclínica, pero como la fermentación es mayor el pH del fluido ruminal disminuye más rápido y el cuadro comienza a tornarse más grave. Cuando el pH baja de 5,0 las bacterias lactolíticas (*Megasphera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium*) no resisten el bajo pH y mueren, con lo cual aumentan aún más las concentraciones del ácido láctico, pues el ambiente es favorable al crecimiento de las bacterias productoras de este ácido (*Lactobacillus* spp). Cuando la concentración del ácido láctico está muy elevada este es absorbido por las paredes ruminales, lo cual puede llevar a una acidosis metabólica. Cuando el animal está en esta fase del trastorno, si el cuadro no es revertido rápidamente a través de tratamiento, puede ocurrir el óbito.

Señales clínicas de la acidosis láctica ruminal

Los animales que presentan la forma clínica del trastorno muestran varias señales características de comprometimiento ruminal y sistémico de acuerdo con la gravedad del cuadro clínico (**Tabla 2.8**), entre las cuales están: anorexia, disminución abrupta de la producción lechera y de la proporción de grasa en la leche, disminución o ausencia de los movimientos ruminales, aumento de la frecuencia cardiaca (que puede estar por encima de 140 por minuto), taquipnea asociada con disminución de la amplitud respiratoria, diarrea (puede haber presencia de granos), deshidratación (que en casos graves puede llegar a 10% a 12% del peso corporal), apatía, temblores musculares, crujir de dientes, cólico y timpanismo, aumento de líquido en el rumen (distensión) debido al aumento de la osmolaridad del fluido, incoordinación, claudicación asociada a laminitis, postración y decúbito.

Tabla 2.8 Hallazgos clínicos y selección de tratamientos en la acidosis láctica de los rumiantes

Parámetros	Grado de la enfermedad			
	Hiperaguda	Aguda	Subaguda	Moderada
Estado general	Depresión severa, decúbito lateral	Depresión, ataxia, anorexia	Alerta, puede caminar y comer	Come y bebe normalmente
Deshidratación (%)	8-12	8-10	4-6	No detectable
Distensión abdominal	Prominente	Moderada	Moderada a ninguna	Ninguna
Frecuencia cardiaca (lat/min)	110-130	90-100	72-84	72-84
Temperatura corporal (ºC)	35,5-38,0	38,5-39,5	38,5-39,0	38,5-39,0
Estado del rumen	Distendido con fluido, estasis, sin protozoarios, pH < 5,0	Distendido con fluido, estasis, sin protozoarios, pH 5,0-6,0	Moderada distensión con fluido, contracciones débiles, algunos protozoarios, pH 5,5-6,5	Sin distensiones, contracciones por debajo de lo normal, protozoarios normales, pH 6,5-7,0
Tratamiento	Rumenotomía, bicarbonato de sodio 5 % endovenosa, solución isotónica	Rumenotomía o lavado gástrico, bicarbonato de sodio 5 % endovenosa, solución isotónica, ofrecer heno	Hidróxido de magnesio 500 g intrarruminal, solución isotónica, ofrecer heno	Ofrecer heno, observar presencia de anorexia por 48 horas

Diagnóstico de la acidosis láctica ruminal

Para un diagnóstico efectivo de acidosis ruminal se debe tomar en consideración la historia clínica del animal, las señales clínicas y los exámenes complementarios, como la evaluación del fluido ruminal, de la orina y de la sangre. La forma subclínica del trastorno no presenta señales clínicas y una de las formas para el diagnóstico definitivo es la evaluación del fluido ruminal. La **Tabla 2.9** muestra las diferencias en las características del fluido ruminal entre la forma clínica y la subclínica de la acidosis ruminal.

En la evaluación de la leche en animales con acidosis clínica y subclínica se observa reducción del valor de la grasa, así como disminución en la producción de leche, teniendo en la forma clínica una caída abrupta. En la sangre, cuando el comprometimiento ruminal es grave, puede haber reducción del pH sanguíneo a 7,0-7,2. El animal puede presentar hematocrito elevado debido a deshidratación por el secuestro de líquidos en el rumen, acompañado de menor presión sanguínea. Hay también aumento en las concentraciones de lactato y fosfato inorgánico, y reducción de bicarbonato. En la evaluación de la orina, que en condiciones fisiológicas de rumiantes es alcalina (pH 7,7 a 8,4), el valor será inferior a los limites fisiológicos, y puede reducirse de acuerdo a la gravedad de la enfermedad hasta llegar a 5,0. La orina se presenta más concentrada con disminución de volumen y el animal en fase terminal puede presentar anuria.

Deben ser considerados algunos indicios en una propiedad que puedan ser indicadores de la presencia de este trastorno, entre los cuales se destacan: alto porcentaje de animales que presentan desplazamiento de abomaso, más de 10% del rebaño con casos clínicos de laminitis, infertilidad de vacas en posparto, abscesos hepáticos, ruminitis micótica, trombosis de la vena cava asociada con hemorragia pulmonar.

Tratamiento de la acidosis láctica ruminal

Debe ser verificada la gravedad del cuadro clínico de los animales acometidos para establecer el tratamiento, de acuerdo con las señales clínicas ya descritas y con los exámenes complementarios, en especial la evaluación del fluido ruminal. En cuadros de acidosis ruminal subclínica, muchas veces apenas con la corrección de la dieta (proporción de concentrado x forraje), asociada con retirada del concentrado durante dos días, los animales retornan al pH fisiológico del rumen.

En casos clínicos de acidosis el cuidado debe ser mayor, tomando en cuenta el estado general del animal y el tiempo transcurrido desde la ingestión de la cantidad exacerbada del concentrado. Los animales deben ser mantenidos en observación por un periodo de veinticuatro horas, porque a veces en el momento de la evaluación pueden no presentar señales clínicas evidentes y debido a que la fermentación de los carbohidratos prosigue estos animales pueden presentar señales clínicas posteriormente. El primer paso para el tratamiento de los animales acometidos es retirar por completo el concentrado, ofreciendo apenas heno de buena calidad, con restricción hídrica (el agua solubiliza los carbohidratos presentes en el rumen y favorece aún más la fermentación), y hacer que los animales se muevan cada doce horas para que sea estimulada la motilidad del sistema digestivo.

Tabla 2.9 Características del fluido ruminal en animales con acidosis ruminal clínica y subclínica

Parámetros del fluido ruminal	Acidosis ruminal clínica	Acidosis ruminal subclínica
Color	lechoso, amarillento	marrón claro
Olor	ácido, repulsivo	levemente ácido
Consistencia	viscoso, acuoso	levemente acuosa
Sedimentación y fluctuación	ausente	tiempo aumentado
Actividad reductiva	prolongada o ausente	levemente aumentada
Movimientos de protozoarios	ausentes	reducidos
pH	< 5,2	5,2 - 6,0

Deben observarse los siguientes cuidados:

Corregir la acidosis ruminal y, si es necesario, la sistémica, evitando la continuación de formación de ácido láctico:

— Agentes alcalinizantes intraruminales: en casos moderados de acidosis se puede optar por usar carbonato de magnesio o hidróxido de magnesio (1 g/kg de peso corporal), o 150 g de bicarbonato de sodio. Estos tamponantes deben ser diluidos en 10 L de agua tibia (para un animal de 450 kg de peso vivo); la solución debe ser depositada en el rumen a través de una sonda ororruminal, teniendo cuidado de no provocar falsa vía. Se pueden suministrar dosis menores repetidas cada seis-doce horas. Se puede optar por no utilizar bicarbonato de sodio en casos de animales con rumen en atonía, dada la posibilidad de desarrollar meteorismo/timpanismo de leve a moderado debido a la liberación de dióxido de carbono.
— Rumenotomía: utilizada en casos graves, con depresión del animal, hipotermia, distensión ruminal debido a los secuestros de líquidos, taquicardia (110-130/min), pH del fluido ruminal abajo de 4,5. Se debe retirar del rumen una cantidad relevante de contenido, en especial del material que provoca la acidosis; después se hace la transferencia de 10–20 L de fluido ruminal de un animal sano. Realizado con eficiencia, este procedimiento dispensa la utilización de agentes alcalinizantes en el rumen. Para la realización de la rumenotomía se debe considerar que cuando hay un gran número de animales que presentan cuadro grave de acidosis en la propiedad existe un alto costo de la cirugía y puede no haber tiempo de reversión del cuadro clínico, en cuyo caso puede optarse por el sacrificio de emergencia de los animales.
— En vez de rumenotomía se puede proponer un lavado del rumen vía sonda ororruminal, si las circunstancias lo permiten.
— Corrección sanguínea: cuando la acidosis se vuelve sistémica hay necesidad de administrar soluciones intravenosas de alcalinizantes. Se pueden utilizar soluciones de bicarbonato a 5%, en promedio de 5 L para un animal de 450 kg, debiendo ser administradas en un tiempo superior a treinta minutos; en las seis a doce horas siguientes se deben aplicar soluciones de bicarbonato isotónico (1,3%), 150 mL/100 kg de peso por vía endovenosa.
— Restaurar el equilibrio hidroelectrolítico de la corriente sanguínea tomando en cuenta el grado de deshidratación del animal, administrando soluciones Ringer y también de glucosa a 10%-20% endovenosa, para suministrar sustratos energéticos al paciente.
— Hacer que la motilidad del preestómago y del intestino retornen al estado fisiológico a través de la oferta de una dieta rica en fibras, asociada con el movimiento de los animales.

Tratamiento auxiliar, de acuerdo con la evaluación clínica:

— Parasimpaticomiméticos con el propósito de estimular la motilidad intestinal.
— Antibióticos vía oral (penicilinas y tetraciclinas) para auxiliar en el control del crecimiento de las bacterias productoras de ácido láctico.
— Antibióticos de amplio espectro vía sistémica, para controlar eventuales septicemias, en caso de acidosis ruminal grave.
— Carbón vegetal (2 g/kg peso corporal), para inactivar endotoxinas liberadas por la destrucción de los microorganismos Gram-negativos del rumen.
— Probióticos vía oral.
— Antihistamínicos, para controlar la laminitis que ocurre en algunos casos.
— Corticosteroides como terapia para revertir los cuadros de choque
— Administración oral de tiamina o levadura de cerveza para aumentar la utilización ruminal de lactato.

Prevención de la acidosis láctica ruminal

Cuando se opta por una dieta rica en concentrado para aumentar la productividad del sistema de producción la fracción concentrada de la dieta debe ser utilizada de forma gradual, a fin de promover la adaptación de la flora ruminal y de las papilas del rumen. Se puede iniciar con 8-10 g/kg de peso vivo, aumentando cada dos a cuatro días en cantidades de 10%-12%. La adaptación completa de la microbiota ruminal a gran cantidad de carbohidrato, así como a cualquier otro suplemento, toma aproximadamente veintiún días. Así, se debe observar también la frecuencia y la rutina de

suministro del alimento, evitando cambios bruscos en el ambiente ruminal. También se deben formular dietas que no predispongan a una producción excesiva de ácidos en el rumen, mediante la adición de forrajes que estimulen la contracción ruminal, aumenten la tasa de pasaje de la fase líquida para promover la remoción de ácidos del rumen, y aumenten el contacto del contenido ruminal con el epitelio, favoreciendo la absorción de AGV; por ejemplo, vacas en lactación deben recibir dietas con mínimo 28 % de FDN (18 %-22 % de MS debe ser FDN).

Con relación al procesamiento de granos, es bueno considerar que partículas muy pequeñas mejoran la digestibilidad del almidón y por eso aumentan la producción de ácidos, y que partículas muy largas y mal mezcladas favorecen la selección de alimentos por parte del animal. Así, el tamaño ideal de las partículas es de 8 mm en 50 % del forraje. Otro aspecto ligado al manejo alimentario es el de suministrar forraje antes del concentrado, disminuyendo la probabilidad de exposición del ambiente ruminal a pH bajo, y ofrecer alimentos tres a cuatro veces por día, de conformidad con la conveniencia y logística de manejo.

Varios suplementos vienen siendo utilizados para evitar la acidosis ruminal, entre los cuales el más difundido hoy día es el de ionóforos, como la monensina sódica, que actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram-positivas como *Streptococcus bovis,* productora de lactato, que es uno de los ácidos responsables de la acidosis clínica. Los ionóforos modifican la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen mediante la disminución de la proporción molar de acetato a butirato, de la producción de gas metano y del aumento en la producción de propionato. La monensina sódica debe ser utilizada en la dosis de 30 mg/kg de dieta con base en la materia seca, a fin de reducir el crecimiento de bacterias Gram-positivas en el caso de ganado de carne confinado y 10-22 mg/kg en el caso de vacas lecheras. Es necesario que exista precaución, pues cantidades por encima de 30 mg/kg pueden influenciar negativamente también las bacterias Gram-negativas.

Otra opción para evitar la acidosis ruminal evitando el uso de antibióticos en sistemas de producción, es la utilización de probióticos como las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), las cuales remueven el oxígeno que llega al rumen a través del alimento y la saliva, proporcionando aumento en el número de bacterias celulolíticas viables. De esta forma, el pH del fluido ruminal se vuelve más estable, la metanogénesis y la proporción de ácidos grasos volátiles son alteradas y la concentración de ácido láctico disminuye. Hay varios estudios que abordan la utilización de probióticos en las dietas, proporcionando aumento en la producción de leche y ganancia de peso en bovinos de carne. Este aumento en el desempeño productivo es atribuido al equilibrio de la flora ruminal, favoreciendo las bacterias celulolíticas y las consumidoras de lactato, promoviendo aumento en la digestión de las fibras y de proteína microbiana en el rumen, lo que es benéfico para los animales en sistemas de confinamiento que ingieren dietas ricas en granos. Otro aspecto de gran relevancia es el hecho de que los probióticos, al ser microorganismos vivos, tienen la ventaja de eliminar el riesgo de resistencia microbiana a los antibióticos, además de no dejar residuo en la carne y en la leche.

También se utiliza como prevención de acidosis ruminal *buffer* como el bicarbonato de sodio, mezclado en la fracción concentrada de la dieta. Este suplemento se muestra eficiente, pero tiene factores negativos como el aumentar la incidencia de cálculos urinarios, meteorismo y deficiencias de vitaminas. En caso de utilización de bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) se debe suministrar 0,5 %-1 % en la materia seca y, en casos de confinamiento, utilizar 2 %-3 % en las tres primeras semanas.

Alcalosis ruminal

La alcalosis ruminal es un trastorno poco estudiado en el medio científico, siendo que es de frecuente ocurrencia en los sistemas productivos de rumiantes. La fuente proteica en la dieta de un animal es de gran importancia para que se alcancen buenos índices productivos, por lo tanto, cuando ocurre un desequilibrio en la formulación de la ración por exceso de proteína o por falta de energía suficiente, hay gran riesgo de que el animal presente cuadro de alcalosis ruminal.

Etiología de la alcalosis ruminal

El trastorno ocurre debido a la alta concentración de amonio en el rumen. Las causas, que pueden ser diversas, varían desde un error en la formulación de la dieta por exceso de proteína degradable en el rumen asociado con baja de energía, hasta casos accidentales por consumo exacerbado de urea cuando es utilizada

como sustituto de la proteína en la formulación de raciones, o incluso en casos de ingestión de alimentos deteriorados, tales como ensilajes pútridos, agua contaminada con heces u orina, subproductos de cervecería y residuos industriales.

Epidemiología de la alcalosis ruminal

Con el sistema de producción de los rumiantes cada vez más intensificado, donde se exige alta productividad en poco tiempo, con un costo de producción cada vez menor para que el producto se torne competitivo en el mercado, el animal está siendo sometido a una dieta con altos niveles de proteína y energía. Cuando la ración no es bien formulada, o cuando ocurre error de manejo, puede ocurrir desequilibrio en la flora ruminal y causar alcalosis ruminal. La gravedad de la alcalosis depende de la velocidad de liberación de amonio dentro del rumen. Este trastorno puede ocurrir en sistemas que utilizan urea en la ración como materia prima para la síntesis de proteína por las bacterias ruminales, así como con el uso de harina de soya que posee la enzima ureasa, la cual facilita la degradación de la urea y la formación de amonio, o también con el uso de alimentos contaminados con sustancias alcalinizantes o pútridas. Este trastorno puede ocurrir en un gran lote de animales cuando se trata de error de manejo, o en pocos cuando accidentalmente hay contacto con alimentos pútridos o ricos en proteínas altamente degradables.

Patogenia de la alcalosis ruminal

El amonio presente en el rumen se origina en la degradación de la proteína verdadera de la ración, del nitrógeno no proteico de la ración (ej.: urea), del nitrógeno reciclado para el rumen en forma de urea y de la degradación de las células microbianas muertas. La urea, al entrar en el rumen, es degradada por las bacterias ureolíticas con acción de la enzima ureasa a amonio, el cual, en altas concentraciones es tóxico para el animal. Se debe tener cuidado cuando se formula la ración, pues ocurre un pico de amonio en el rumen de acuerdo con la dieta que el animal recibe. En un animal con urea en la dieta el pico de amonio ruminal ocurre en torno de una a dos horas después de la alimentación, mientras que en el animal alimentado con proteína verdadera el pico es de tres a cinco horas. Para ocurrir una eficiente utilización del amonio por los microorganismos el ambiente ruminal debe estar con energía disponible, ya que de lo contrario su uso es ineficaz. Cuando no es utilizado para la síntesis microbiana el amonio se absorbe en la pared ruminal por difusión, y vía la vena porta va al hígado, donde se transforma en urea, la cual no es tóxica para el animal y se puede eliminar por la orina y la leche.

El exceso de amonio en el rumen (mayor que 80 mg/dL) alcaliniza su fluido (pH mayor que 7,0), y mientras más elevado el pH del ambiente ruminal mayor es la tasa de absorción del amonio por las paredes ruminales una vez se absorbe en su forma no ionizada (NH_3), que se ve favorecida con pH más elevado. La elevación del pH ruminal desequilibra su flora, causa la muerte de microorganismos y torna pútrido el fluido ruminal. Lo que es tóxico para el animal, además del comprometimiento ruminal, es el exceso de amonio en la corriente sanguínea, pues el hígado no consigue transformar todo el amonio en urea. En casos graves puede llevar a una alcalosis metabólica, elevando los niveles sanguíneos de amonio y del pH de la sangre, lo cual puede causar la muerte del animal. En casos de ingestión de alimentos deteriorados, incluyendo agua de baja calidad, ocurre la putrefacción del ambiente ruminal, muerte de la flora y elevación del pH ruminal.

Señales clínicas de la alcalosis ruminal

El animal presenta disminución de la ingesta alimentaria, siendo su severidad acorde al grado de comprometimiento ruminal, y se evidencia por hálito pútrido, disminución de los movimientos ruminales y de la rumiación, apatía, y en vacas lecheras hay reducción de la producción. En casos más agudos de alcalosis ruminal puede presentarse aumento en la concentración sanguínea de urea y amonio, lo cual causa aumento del pH sanguíneo y del tracto reproductivo, lo que puede reducir la fertilidad espermática y por ende la fertilidad del rebaño. Esa elevación del pH sanguíneo debida a la alcalosis ruminal también puede derivar en otra enfermedad, como hipocalcemia, en su forma clínica o subclínica, que ocurre debido a la reducción de la movilización de calcio óseo inherente al pH elevado de la sangre que inhibe la acción de la paratiroides.

Diagnóstico de la alcalosis ruminal

Para tener un diagnóstico preciso se debe tener en cuenta la historia clínica del animal o del rebaño (cantidad de proteína bruta en la dieta, uso de urea

en la composición de la ración, restos de cervecería, ingestión de alimentos descompuestos, calidad del agua, entre otros). Además de las señales clínicas descritas, considerar el examen del fluido ruminal, de orina y, si es posible, de marcadores bioquímicos sanguíneos. La evaluación del fluido ruminal puede presentar los siguientes resultados, de acuerdo con la gravedad del disturbio:

pH: 7,0-8,5
Color: marrón
Olor: pútrido
Consistencia: aumentada
Tiempo de sedimentación y fluctuación: aumentado
Actividad reductiva: mayor que 10 min
Movimiento de protozoarios: disminuido o ausente
Ácidos grasos volátiles: disminución de propiónico y aumento de butírico.

En la orina se observa aumento del pH, que puede llegar a 8,5. En la evaluación de la leche se aprecia en animales acometidos por alcalosis aumento en las concentraciones de urea y en el recuento de células somáticas. En el perfil bioquímico sanguíneo hay aumento en las concentraciones de urea, amonio y glucosa.

Tratamiento de la alcalosis ruminal

En cada animal el tratamiento puede ser diferente, al tomar en cuenta la severidad de su cuadro clínico. Se debe acidificar el ambiente ruminal para hacer que el amonio permanezca en la forma ionizada (NH_4^+), con lo cual se dificulta su absorción por la pared ruminal, pues no se absorbe en la forma iónica. Para el tratamiento de alcalosis ruminal se debe:

- Corregir la dieta del animal.
- Tratar con ácido acético/vinagre: 2 mL/kg de peso corporal vía oral.
- Evaluar la posibilidad de uso de oxitetraciclina para disminuir la población de microorganismos indeseables.
- Suministrar fluido ruminal de un animal sano.
- Dar terapia de soporte según la condición clínica del paciente.

Con relación al uso de fluido ruminal se debe, preferencialmente, recoger de animales adaptados a la misma condición alimentaria del animal acometido. El fluido ruminal debe ser administrado inmediatamente después de recoger la muestra del animal sano (o incluso de muestras de mataderos), pudiendo permanecer hasta nueve horas a temperatura ambiente o veinticuatro horas en refrigeración. Un animal adulto debe recibir mínimo 3 L (preferencialmente de 8 a 16 L), repitiendo de acuerdo con la respuesta del paciente, en días sucesivos. El uso de preparaciones probióticas puede ser utilizado en caso de que no sea posible obtener fluido ruminal, sin reemplazarlo completamente por poseer un número menor de especies microbianas. En los casos más graves se puede recomendar antes del suministro del fluido ruminal, que sea realizada una rumenotomía para la retirada del contenido pútrido, aplicando una cantidad mayor de fluido ruminal. Se debe tomar en cuenta el estado general del animal, si puede resistir una cirugía, y también ver la viabilidad económica del procedimiento. Si hay necesidad (animales con prolongada anorexia o en los cuales se presume deficiencia de electrolitos), se pueden administrar 20-30 L vía oral de soluciones isotónicas a base de sales de sodio y potasio.

Prevención de la alcalosis ruminal

Se recomienda siempre tener un balance nutricional de la dieta de los animales, cuidando las exigencias proteicas una vez que el exceso de proteína encarece el sistema de producción, además de causar en el animal mayor gasto de energía para liberar el excedente de proteína. Se debe conocer la calidad del alimento y del agua que le está siendo suministrada. Cuando se utiliza urea en la ración, implementar de forma gradual para adaptar la flora ruminal, junto con alimentos que ofrezcan energía disponible a fin de que ocurra la completa utilización de la urea. Cuidar que los depósitos queden bien cerrados, evitando que los animales accidentalmente entren e ingieran alimentos que puedan traer prejuicios a su salud o causar desperdicio.

Abordaje laboratorial de los desequilibrios ácido-básicos

La medición de HCO_3^- en la sangre es de la mayor importancia en la clínica, porque indica la capacidad del organismo para manejar cantidades adicionales de ácidos orgánicos. Como escribe Baggott (1992), "medir solamente el pH es como caminar sobre una fina capa de hielo": podemos observar si todavía estamos o no en la superficie, pero no podemos tener una idea de cuándo

puede ocurrir el hundimiento. El conocimiento de la [HCO_3^-] da una información equivalente a conocer cuán cerca se está de la ruptura del hielo y cuán profunda está el agua debajo. Valores de HCO_3^- muy distantes de la normalidad con valores anormales de pH y CO_2 indican que los mecanismos compensatorios no están accionados, lo que puede acontecer, por ejemplo, en cuadros de acidosis o alcalosis mixtas, respiratorias y metabólicas (**Tabla 2.10**).

Gasometría

La recogida de muestras para pruebas de gasometría debe ser en tubos heparinizados. En veterinaria es mejor recoger sangre arterial (arteria femoral en perros), tomando en cuenta que anestesiar el animal altera el estado ácido-básico de la sangre. Sin embargo, se puede utilizar sangre venosa, pues la diferencia de pH entre sangre arterial y venosa es pequeña. La muestra de sangre debe estar libre de aire, acondicionada en nevera con hielo y enviada inmediatamente al laboratorio en un periodo de hasta dos horas. Los aparatos de gasometría, en general, ofrecen los siguientes datos: pH, pO_2, pCO_2, HCO_3^-, exceso de base (EB), hemoglobina, *anion gap*, sodio, potasio y cloro. Una limitante de este examen es el costo del equipo y del examen. Valores de referencia para varias especies se muestran en la **Tabla 2.11**.

El cálculo de la diferencia aniónica (*anion gap*) se usa para clasificar los desequilibrios como acidosis metabólica debida a la pérdida de HCO_3^- o al exceso de ácidos orgánicos, alcalosis metabólica o trastornos ácido-básicos mixtos. El valor de *anion gap* de referencia (10-20 mmol/L) puede aumentar en acidosis metabólica (cetósica o láctica), en el choque hipovolémico, en ejercicio intenso, en la diabetes mellitus y en intoxicaciones (salicilatos, paraldehído, metaldehído, metanol, etileno-glicol). El *anion gap* puede disminuir en gamapatía policlonal (aumentan proteínas catiónicas), en hipoalbuminemia (disminuyen las proteínas aniónicas y aumenta cloro para compensar) y en la acidosis metabólica hiperclorémica de origen gastrointestinal o renal (pérdida de fluidos y bicarbonato).

El exceso de base (EB) es un cálculo que apoya la identificación de acidosis o alcalosis metabólica. Se trata de una cuantificación de la proporción de bases en la sangre, calculada bajo condiciones estandarizadas de pCO_2 y de temperatura. El EB es medido por la cantidad de ácido clorhídrico necesario para alcanzar un pH de 7,4 a pCO_2 de 40 mmHg y temperatura de 37 ºC. El valor de referencia de EB tiene estrecha relación con los valores de HCO_3^-, donde EB de 0 mmol/L equivale a 24 mmol/L de HCO_3^-. Valor aumentado de EB indica alcalosis metabólica y valor disminuido indica acidosis metabólica. El EB refiere indirectamente la cantidad de *buffer* existente en la sangre, por eso los valores referenciales son alrededor de cero. Mientras más negativos sean los valores de EB, mayor es la pérdida de reserva de *buffer* en la sangre, esto es, mayor el grado de acidosis. De manera inversa, valores más positivos de EB indican cuadro de alcalosis. El EB es importante para calcular la cantidad de *buffer* necesario de infundir en un animal con desequilibrio ácido-básico.

Tabla 2.10 Principales cuadros patológicos que cursan con alteraciones del equilibrio ácido-básico e hidroelectrolítico

Cuadro patológico	Tipo de alteración
Diarrea	Deshidratación, hipo- o hipercalemia, hiponatremia, acidosis metabólica (pérdida de bicarbonato y reducción en la excreción de H^+), azotemia prerrenal.
Torsión de abomaso (bovinos)	Hipocloremia (secuestro de Cl^- en el abomaso), hipocalemia, alcalosis metabólica (aumento de bicarbonato, con orina ácida), deshidratación.
Acidosis láctica (rumiantes)	Acidosis metabólica, deshidratación.
Anestesia en sistema cerrado (equinos)	Acidosis respiratoria.
Obstrucción intestinal (equinos)	Acidosis metabólica, deshidratación.
Ejercicio extenuante	Acidosis metabólica (acumulación de lactato).
Insuficiencia renal	Deshidratación (con isostenuria), acidosis metabólica (reducción en la excreción de H^+ y en la reabsorción de bicarbonato), hipercalemia, hiponatremia.
Vómito	Deshidratación, alcalosis metabólica (por pérdida de ácido), hipocalemia, hipocloremia.
Diabetes mellitus	Acidosis metabólica (cetoacidosis), hiponatremia (por diuresis), hipercalemia (con hipocalemia poscorrección de la acidosis).
Diabetes insípida	Deshidratación.
Insuficiencia adrenal (síndrome de Addison)	Hipercalemia, hiponatremia, hipovolemia, deshidratación.
Choque hipovolémico	Acidosis metabólica (por hipoxia tisular con acumulación de CO_2).
Insuficiencia cardiaca congestiva	Deshidratación (por aumento de fluido extracelular con hipoproteinemia).
Anorexia	Deshidratación con tendencia a acidosis metabólica.

Tabla 2.11 Valores de referencia de gasometría en sangre para varias especies

Parámetro	Bovinos	Ovinos	Caninos	Felinos	Equinos
pH	7,29 a 7,40	7,28 a 7,42	7,31 a 7,42	7,24 a 7,40	7,32 a 7,44
HCO_3^- (mmol/L)	20 a 29	19 a 25	18 a 24	17 a 24	24 a 30
Exceso de base (mmol/L)	-2,3 a 3,7	-4,0 a 2,0	-3,0 a 2,0	-5,0 a 2,0	-0,04 a 6,4
pCO_2 (mmHg)	35 a 44	37 a 46	29 a 42	29 a 42	38 a 46
pO_2 (mmHg)	80 a 102	83 a 95	50 a 97	27 a 112	31 a 46
Anion gap (mmol/L)	13,9 a 20,2	12 a 24	15 a 25	15 a 25	6,6 a 14,7
Osmolalidad (mOsm/kg)	270 a 300	280 a 300	280 a 305	280 a 305	270 a 300

2.10 Bibliografía

Alberty, R. A., y Cornishbowden, A. (1993). The pH dependence of the apparent equilibrium constant, K', of a biochemical reaction. *Trends Biochem. Sci., 18*, 288-290.

Argenzio, R. A. (1985). Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 1*, 461-469.

Baggott, J. (1992). Gas transport and pH regulation. En T. M. Devlin (ed.), *Textbook of biochemistry with clinical correlations* (pp. 1025-1058). New York, USA: Wiley-Liss.

Berchtold, J. (1999). Intravenous fluid therapy of calves. *Vet. Clin. North Am.*: *Food Anim. Pract.*, *15*, 505-531.

Bouda, J., Doubek, J., Medina-Cruz, M., Paasch, M. L., Dvorak, R., y Soska, V. (1997). Pathophysiology of severe diarrhea and suggested intravenous fluid therapy in calves of different age under field conditions. *Acta Vet. (Brno), 66*, 87-94.

Brosard, L., Martin, C., y Michalet-Doreau, B. (2003). Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Anim. Res., 52*, 513–530.

Carlson, G. P. (1997). Fluid, electrolyte, and acid-base balance. En J. J. Kaneko, J. W. Harvey & M. L. Bruss, M. L. (eds.), *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5.ª ed. New York, USA: Academic Press.

Coles, E. H. (1986). *Veterinary clinical pathology*. Philadelphia, USA: W. B. Saunders Company.

Constable, P. D., Gohar, H. M., Morin, D. E., y Thurmon, J. C. (1996). Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. *American J. Vet. Res., 57,* 97-104.

Constable, P. D., Walker, P. G., Morin, D. E., y Foreman, J. H. (1998). Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *JAVMA, 212*, 991-996.

Constable P. D. (2003). Fluid and electrolyte therapy in ruminants. *Vet. Clin. North Am.*: *Food Anim. Pract.*, *19,* 557-597.

Cotee, G., Kyriazakis, I., Widowski, T. M., Lindinger, M. I., Cant, J. P., Duffield, T. F.,... y McBride, B. W. (2004). The effects of subacute ruminal acidosis on sodium bicarbonate-supplemented water intake for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci., 87*, 2248-2253.

Davenport, H. W. (1974). *The ABC of acid-base chemistry*. 6.ª ed. Chicago, USA: University of Chicago Press.

Dibartola, S. P. (2000). *Fluid therapy in small animal practice*. 2.ª ed. Philadelphia, USA: W. B. Saunders.

Ecke, P., Hodgson, D. R., y Rose, R. J. (1998). Induced diarrhea in horses. Part 1: Fluid and electrolyte balance. *The Veterinary Journal, 155*, 149-159.

Enemark, J. M., Jorgensen, R. J., y Kristensen, N. B. (2004). An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Vet. Res. Commun., 28*, 687-709.

Enemark, J. M., y Jorgensen, R. J. (2000). Subclinical rumen acidosis as a cause of reduced appetite in newly calved dairy cows in Denmark: results of a poll among Danish dairy practitioners. *Vet. Quart., 23*, 206-210.

Fernbach, A., y Hubert, L. (1900). De l'influence des phosphates et de quelques autres matières sur la diastase protéolitique du malt. *Compt. Rend. Acad. Sci., 131*, 293-295.

Garrett, E. F., Pereira, M. N., Nordlund, K. V., Armentano, L. E., Goodger, W. J., y Oetzel, G. R. (1998). Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci., 82,* 1170-1178.

Kasari, T. R. (1990). Metabolic acidosis in diarrheic calves: the importance of alkalinizing agents in therapy. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 6*, 29-43.

Kasari, T. R. (1999). Metabolic acidosis in calves. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 15*, 473-486.

Kasari, T. R., y Naylor, J. M. (1985). Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *JAVMA, 187*, 392-397.

Keynen, J. E., Plaizer, J. C., Kyriazakis, I., Duffield, T. F., Widowski, T. M., Lindinger, M. I., y McBride, B. W. (2003). Effects of subacute ruminal acidosis on free-choice intake of sodium bicarbonate in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci., 86*, 954-957.

Kezar, W. W., y Church, D. C. (1979). Ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. *J. Anim. Sci., 49,* 1161-1167.

Kleen, J. L., Hooijer, G. A., Rehage, J., y Noordhuizen, J. P. (2003). Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Vet. Med. A, 50*, 406-414.

Krause, K. M., y Oetzel, G. R. (2005). Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci., 88*, 3633-3639.

Krause, K. M., y Oetzel, G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol., 126,* 215-236.

Leal, M. L., Mori, C. S., y Ortolani, E. L. (2007). Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 59*, 965-970.

Leal, M. L., Maruta, C. A., y Ortolani, E. L. (2007). Uso de bicarbonato e lactato-L para correção da acidose metabólica sistêmica em bovinos com acidose láctica ruminal aguda. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 59*, 971-976.

Michell, A. R., Bywater, R. J., Clarke, K. W., Hall, L. W., y Waterman, A. E. (1989). *Veterinary fluid therapy*. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications.

Montgomery, R., Dryer, R. L., Conway, T. W., y Spector, A. A. (1980). *Biochemistry, a case-oriented approach*. Saint Louis, USA: The C.V. Mosby Co.

Montiani, F., y Pachaly, J. R. (2000). *Manual de fluidoterapia em pequenos animais*. São Paulo, Brasil: Editora Guará.

Naylor, J. M. (1989). A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Canadian Vet. J., 30,* 577-580.

Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci., 80*, 1005-1028.

Roussel, A. J., y Kasari, T. R. (1990). Using fluid and electrolyte replacement therapy to help diarrheic calves. *Vet. Med., 85*, 303-311.

Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., y Gill, D. R. (1998). Acidosis in cattle: a review. *J. Anim. Sci., 76*, 275-286.

Patra, R. C., Lal, S. B., y Swarup, D. (1996). Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Ruminant Res., 19*, 177-180.

Skinner, H. A. (1961). *The origin of medical terms*, 2.ª ed. Baltimore, USA: Williams & Wilkins.

Stillinger, F. A. (1980). Water revisited. *Science, 209*, 451-457.

Underwood, W. J. (1992). Rumen lactic acidosis. Part 1. Epidemiology and pathophysiology. *Compendium on Continuing Education for the Practice Veterinary*, *14*, 1127-1133.

Wiggins, P. M. (1990). Role of water in some biological processes. *Microbiol. Rev., 54*, 432-449.

Capítulo 3
Bioquímica clínica de proteínas y compuestos nitrogenados

3.1 Características de aminoácidos y proteínas

Las proteínas son las macromoléculas más abundantes en los seres vivos, constituyendo cerca del 50% del peso vivo (en base seca). Son también las biomoléculas más versátiles en cuanto a funcionalidad, y esta versatilidad funcional está determinada por el número, la clase y la secuencia de los aminoácidos que componen sus unidades estructurales.

Los aminoácidos como unidades básicas de las proteínas

Todas las proteínas están constituidas a partir de veinte tipos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, variando en las diferentes proteínas solo el número y la secuencia de los aminoácidos. Los aminoácidos son moléculas pequeñas, con peso molecular promedio de 130 Da. Todos tienen en común la presencia de un grupo carboxilo y de un grupo amina unidos al mismo carbono (α), y difieren entre sí en la estructura de su grupo residual (grupo R). Además de los veinte aminoácidos que hacen parte de las proteínas (aminoácidos proteicos), existen otros que tienen funciones metabólicas diversas, como por ejemplo la ornitina y la citrulina, que son metabolitos intermediarios del ciclo de la urea.

Clasificación de los aminoácidos

Los aminoácidos pueden ser clasificados en cuatro grupos, en función de la estructura de sus grupos residuales (grupos R), de acuerdo con la polaridad y la carga (**Figura 3.1**), así:

(1) Aminoácidos polares sin carga (Asn, Cys, Gln, Ser, Tyr, Thr): son hidrofílicos y su polaridad puede ser dada por los grupos hidroxilo, amida o sulfhidrilo (tiol), que forman puentes de hidrógeno con el agua; asparagina y glutamina son amidas de los ácidos aspártico y glutámico, respectivamente; la cisteína puede sufrir oxidación en su grupo sulfhidrilo (SH) y formar un compuesto dimérico (Cys-Cys o cistina) por unión de dos cisteínas mediante un puente disulfuro (S-S); esos puentes son comunes en las proteínas y contribuyen a estabilizar la molécula.

(2) Aminoácidos polares cargados negativamente o aminoácidos ácidos (Asp, Glu): la carga está determinada por los grupos carboxilo ionizados.

(3) Aminoácidos polares cargados positivamente o aminoácidos básicos (Arg, His, Lys): la carga positiva está determinada por los grupos guanidino (Arg), imidazol (His) o amina (Lys).

(4) Aminoácidos no polares (Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val): sus grupos R pueden ser alifáticos o aromáticos, y en todos los casos hidrofóbicos; la glicina es el aminoácido más simple; la prolina es un iminoácido (grupo amina secundario), pues el carbono α está unido con el extremo del grupo R, ciclizando la molécula y dejándola más rígida.

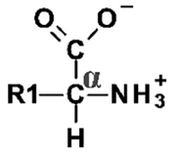
Los aminoácidos con cadenas laterales aromáticas (His, Phe, Tyr, Trp) absorben la luz ultravioleta a 280 nm, constituyéndose en la base para el análisis de proteínas, usando la espectrofotometría de luz ultravioleta (UV).

El organismo de los mamíferos no puede sintetizar todos los aminoácidos que forman parte de las proteínas. Diez de los veinte aminoácidos proteicos son aminoácidos esenciales, esto significa que deben ser incorporados en la dieta de los mamíferos (**Figura 3.1**). Sin estos aminoácidos el organismo no puede sintetizar las proteínas de reposición y las requeridas en los procesos de crecimiento o aquellos procesos que exigen síntesis proteica (gestación, lactación, etc.). La arginina puede ser considerada como un aminoácido

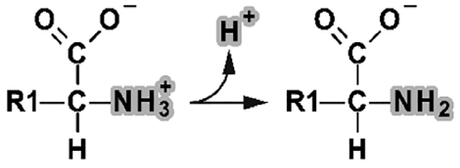
no esencial en los adultos. Sin embargo, durante el crecimiento no son sintetizadas cantidades adecuadas de este aminoácido, tornándolo esencial en animales jóvenes. Los requerimientos de metionina aumentan si la dieta no incorpora cisteína, aminoácido que es sintetizado a partir de la metionina. Efecto similar ocurre con la fenilalanina, cuyos requerimientos aumentan cuando no se suministra tirosina en la dieta. La glicina es un aminoácido esencial en las aves.

Propiedades químicas de los aminoácidos

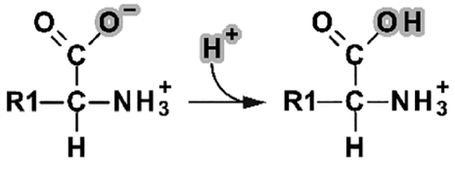
Los aminoácidos pueden estar ionizados en soluciones acuosas, en por lo menos dos grupos ionizables: el grupo ácido (carboxilo) y el grupo amina del carbono α:



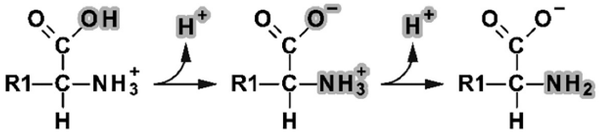
Por tener dos cargas eléctricas opuestas, la forma completamente ionizada se llama ion dipolar o *zwitterion* (ion híbrido). Esta característica influye para aumentar el punto de fusión de los aminoácidos libres, debido a que las cargas hacen más estables y unidas las moléculas entre sí. Los α-aminoácidos en forma dipolar pueden actuar como ácidos al ceder protones y como bases al aceptar protones, teniendo por tanto doble propiedad, por lo cual son llamados compuestos anfóteros, o sea que actúan como ácido o como base dependiendo del pH del medio. El aminoácido en forma de *zwitterion* que cede el H del grupo amina actúa como ácido:



Mientras tanto, el aminoácido *zwitterion* que acepta un H^+ en su grupo carboxilo ionizado actúa como base:



La forma completamente protonada de los aminoácidos puede ceder dos iones H^+ y, por tanto, comportarse como ácido diprótico:



Las tres posibles formas de protonación anteriores hacen que los aminoácidos tengan una curva de titulación típica de sus grupos ionizables. En esta curva hay dos planicies correspondientes a las zonas con mayor capacidad tamponante. En el primer estadio, titulación del grupo carboxilo, este grupo a pH de 1 se encuentra completamente protonado (con carga positiva). En la medida en que se adiciona OH^- (base para neutralizar el ácido) al sistema, comienza a ocurrir pérdida de protones (ionización) del grupo carboxilo, el cual es el primero en disociarse, hasta llegar al punto medio de la titulación (pK_1), o sea, cuando existen cantidades equimolares de las formas donadora y receptora de protones del grupo carboxilo:

$$\frac{[\text{R-CH}(\text{NH}_3^+)\text{COOH}]}{[\text{R-CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-]}=1$$

Es posible continuar con la titulación del grupo carboxilo hasta alcanzar el punto de completa ionización. En este punto la forma del aminoácido es dipolar isoeléctrica, y este valor de pH se conoce como punto isoeléctrico. En el segundo estadio de la titulación comienza a ocurrir pérdida de protones del grupo amina (titulación del grupo NH_3^+): al llegar al punto medio de la titulación (pK_2) habrá cantidades equimolares de las formas donadora y receptora de protones del grupo amina:

$$\frac{[\text{R-CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-]}{[\text{R-CH}(\text{NH}_2)\text{COO}^-]}=1$$

La titulación finaliza próximo del pH 12, donde la forma predominante del aminoácido está completamente desprotonada (con carga negativa). Mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch es posible calcular la proporción de las formas receptora/donadora de protones en un determinado pH. El pH del medio determina el estado de protonación de los grupos amina y carboxilo de los aminoácidos y, por tanto, determina su carga eléctrica. Esta característica

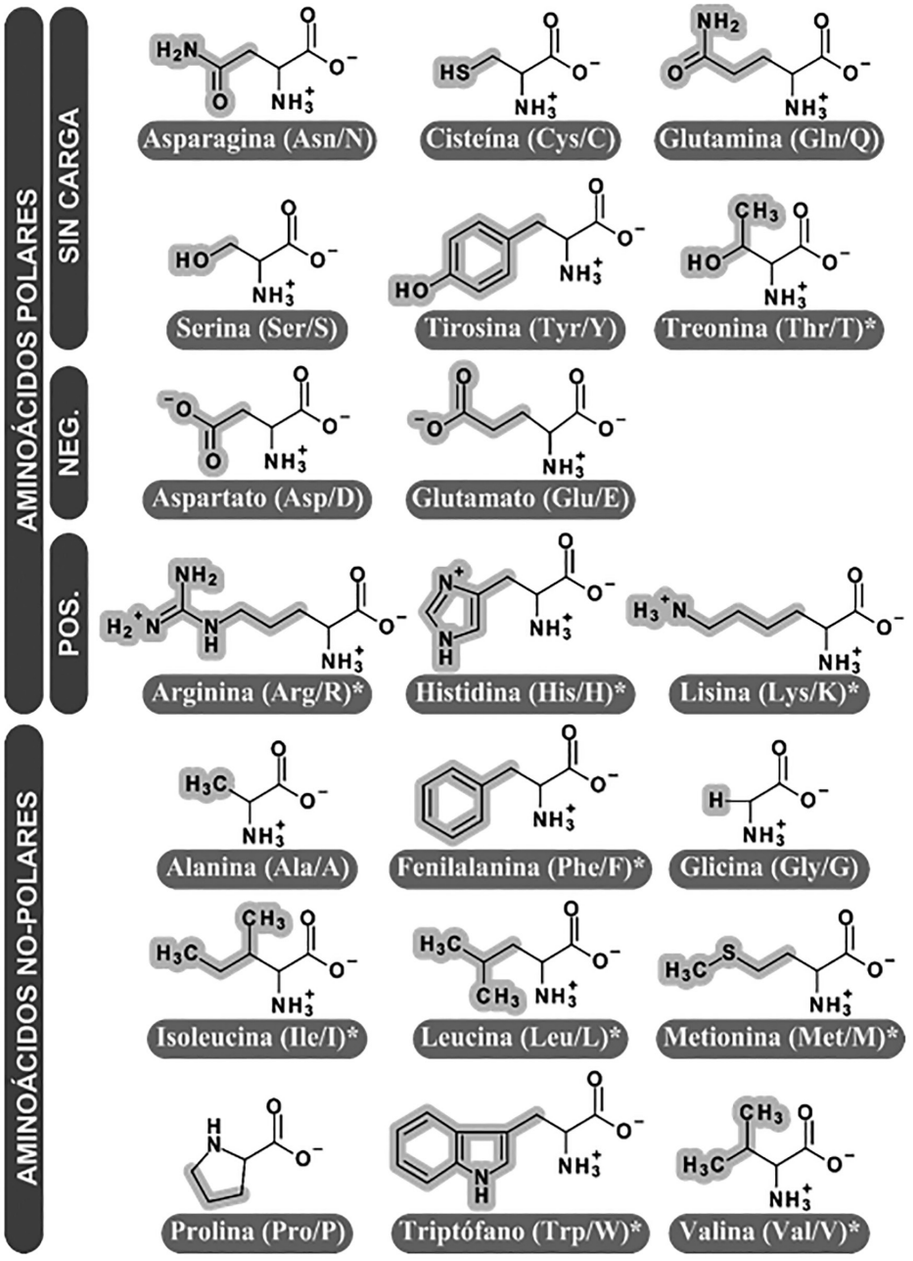


Figura 3.1. Estructura y clasificación de los aminoácidos

Además de los nombres, son mostrados entre paréntesis los códigos de tres y de una letras para cada aminoácido. Los aminoácidos considerados esenciales para mamíferos están indicados por un asterisco. Las cadenas laterales de los aminoácidos se muestran sombreadas. POS., carga positiva; NEG., carga negativa.

es importante para los métodos de análisis de los aminoácidos, pues cada aminoácido tiene diferentes pK para sus grupos amina y carboxilo y para aquellos grupos susceptibles de ser ionizados, existentes en sus residuos.

Aminogramas

Los métodos de análisis para aminoácidos explotan su característica de tener carga eléctrica de acuerdo al pH del medio. Así, uno de los métodos más usados,

la cromatografía de intercambio iónico, usa resinas de intercambio catiónico, o sea, grupos con carga negativa como el sulfonato (SO_3^-), los cuales atraen iones positivos (cationes). Si la solución con la mezcla de aminoácidos a ser analizada está en un pH ácido (por ejemplo pH 3,0), entonces la mayoría de los aminoácidos estarán protonados (con carga positiva) aunque con cargas eléctricas de diferente valor entre los diferentes aminoácidos. La interacción entre los aminoácidos y la resina de intercambio catiónico será específica para cada uno, siendo más fuerte entre los aminoácidos básicos (con mayor carga positiva) que entre los aminoácidos ácidos (con mayor carga negativa). El *buffer* usado para eluir los aminoácidos puede modificar su pH, por ejemplo aumentando y por tanto modificando la carga eléctrica de los aminoácidos que están interactuando con la resina, para así terminar de eluir todos los aminoácidos. Este es el principio del analizador automático de aminoácidos, el cual usa generalmente tres tipos de *buffer* en secuencia de pH 3,25, 4,25 y 5,28. El orden de elución de los aminoácidos es: Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Arg. Los aminoácidos eluidos son posteriormente analizados fotométricamente al reaccionar con la ninhidrina, compuesto que genera un complejo de color violeta leído a 570 nm y cuya intensidad de color es proporcional a la concentración del aminoácido.

Péptidos y proteínas

Los aminoácidos pueden unirse entre sí covalentemente a través de enlaces peptídicos, en los cuales el grupo α-carboxilo de un aminoácido se condensa con el grupo α-amina de otro aminoácido, con la salida de una molécula de agua (**Figura 3.2**). El enlace peptídico es rígido y no puede rotar debido a que la unión C-N tiene un carácter parcialmente doble, haciendo resonancia con la unión C = O. Esta limitación para rotar disminuye el número de posibles conformaciones que las proteínas puedan tomar. Existe un pequeño dipolo en el enlace peptídico debido a las cargas parciales sobre los átomos de oxígeno (δ^-) y de nitrógeno (δ^+), lo que permite la formación de puentes de H entre diferentes enlaces peptídicos, o sea, entre el H unido al N de una unión con el O unido al C de otra unión:

N-H ||| O-C

Los péptidos tienen una extensión que varía de acuerdo al número de aminoácidos que los conforman: pueden ser dipéptidos (2 aminoácidos), tripéptidos (3 aminoácidos), tetrapéptidos (4 aminoácidos), y así sucesivamente hasta oligopéptidos (10-20 aminoácidos) o polipéptidos, los cuales tienen pesos moleculares de hasta 10.000 Dal (cerca de 90 aminoácidos). Polipéptidos mayores con función conocida se consideran proteínas. Por convención, la lectura de la secuencia de los aminoácidos de un péptido se hace de izquierda (extremo amina) a derecha (extremo carboxilo). Existen algunos péptidos pequeños con actividad biológica, principalmente teniendo funciones de hormonas o de transmisores nerviosos (como la oxitocina o las endorfinas). Algunas hormonas peptídicas de bajo peso molecular incluyen insulina (51 aminoácidos), glucagón (29 aminoácidos), ACTH (39 aminoácidos), GnRH (10 aminoácidos), oxitocina (9 aminoácidos) y TRH (la menor hormona peptídica, con 3 aminoácidos).

Clasificación de las proteínas

Las proteínas se pueden clasificar por su forma y su solubilidad, así:

(1) Por la forma, las proteínas pueden ser fibrosas y globulares. Las proteínas fibrosas son insolubles en agua, largas y resistentes, generalmente constituyendo estructuras como la α-queratina del pelo y la lana, la fibroína de la seda o el colágeno del tejido conectivo. En ocasiones también participan de procesos contráctiles como la miosina y la actina del músculo o las proteínas de los microtúbulos (tubulina y dineína). Las proteínas globulares son solubles en sistemas acuosos y se doblan sobre sí para dar una forma esférica. La mayoría de las proteínas son de tipo globular, incluyendo las enzimas, las hormonas proteicas, las proteínas transportadoras, los anticuerpos, y las proteínas de membranas y ribosomas.

(2) Por la solubilidad, las proteínas pueden ser: (a) albúminas: solubles en agua y soluciones salinas; (b) globulinas: poco solubles en agua, pero solubles en soluciones salinas; (c) prolaminas: solubles en soluciones de etanol a 70% pero insolubles en agua, ricas en arginina; (d) histonas: proteínas básicas, solubles en soluciones salinas; (e) escleroproteínas: insolubles en agua y soluciones salinas, ricas en glicina, alanina y prolina.

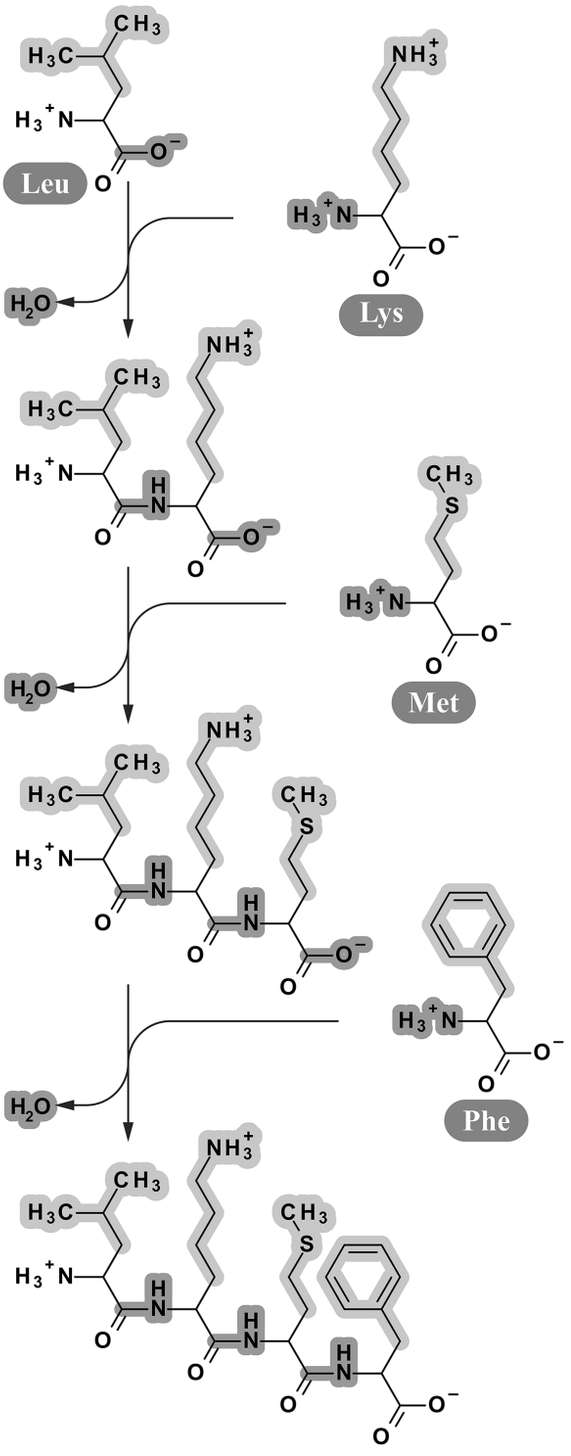


Figura 3.2. Polimerización de los aminoácidos mediante enlaces peptídicos

En esta figura se muestra la formación del tetrapéptido Leu-Lys-Met-Phe. Las cadenas laterales de los aminoácidos están resaltadas en fondo gris claro. En cada aminoácido están resaltados en gris oscuro el hidroxilo del grupo carboxilo y el grupo amino que participan de la unión peptídica (también resaltada en gris oscuro en el péptido).

Niveles de organización estructural de las proteínas

La organización tridimensional que toman las proteínas es fundamental para su actividad, siendo dependiente de las interacciones que existen entre los residuos de los aminoácidos. Por tanto, esta organización depende de los aminoácidos que conforman las proteínas y de cómo esos aminoácidos interactúan entre sí para dar una conformación determinada. Un cambio en la conformación generalmente lleva a la inactividad de la proteína. Las proteínas con su conformación funcional, o sea aquella necesaria para su actividad biológica, se denominan proteínas nativas. Existen cuatro niveles de estructuración de las proteínas:

1. Estructura primaria: se refiere al número, tipo y secuencia de los aminoácidos que conforman la proteína, así como a la localización de los enlaces disulfuro y los enlaces intra- e intercatenarios, los cuales pueden ser enlaces no covalentes, tales como puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, interacciones hidrofóbicas e interacciones de Van der Waals. La estabilidad de una proteína está definida por la suma de la energía libre de formación de los enlaces. A pesar de que los enlaces covalentes tiene mayor variación de energía libre de formación ($\Delta G = -200$ a -460 kJ/mol) que los enlaces no covalentes ($\Delta G = -4$ a -30 kJ/mol), siendo por tanto más fuertes, la estabilidad estructural de la proteína está determinada por los enlaces débiles formados entre los residuos de los aminoácidos, debido a que estos ocurren en gran número. En general los residuos hidrofóbicos se localizan al lado interior de la proteína, mientras que los residuos hidrofílicos están en el exterior, en contacto con el agua.

2. Estructura secundaria: es la relación estérica o espacial que tienen los aminoácidos entre sí, la cual puede ser de forma muy ordenada, como en la queratina, orientados en una espiral en forma de α-hélice a lo largo de un eje (α-hélice). Estas estructuras son muy estables y rígidas, mantenidas por puentes de H. La formación de la estructura de α-hélice es desfavorecida por los siguientes eventos: repulsión o atracción electrostática entre residuos de aminoácidos cargados, residuos de aminoácidos voluminosos y presencia de prolina.

Las proteínas también pueden estar ordenadas en forma de hoja plegada (conformación β), la cual es una estructura más extendida que la estructura α-hélice, tal como se observa en la fibroína de la seda (β-queratina), organizada en forma de zigzag y no en forma de hélice, también mantenida por puentes de hidrógeno. Otra forma de organización es la conformación llamada duplaz β, que consiste en un giro de 180° de la cadena envolviendo aminoácidos ligados a un extremo de una cadena de hoja plegada β. Las tres formas de estructura secundaria pueden coexistir en la misma proteína y son igualmente importantes en la función de la macromolécula.

3. Estructura terciaria: es consecuencia directa de la estructura secundaria y corresponde a la relación estérica total de la proteína, es decir, estableciendo las regiones o dominios de la molécula. Dependiendo de la proporción de formas estructurales secundarias las proteínas pueden dar estructuras terciarias correspondientes a proteínas fibrosas o globulares. Mediante estudios de difracción de rayos X fue posible determinar para las proteínas globulares la proporción de α-hélice y de conformación β, así como el número y la posición de duplaz β, e incluso la proporción de regiones dobladas irregularmente o la proporción de segmentos extendidos. En la conformación de la estructura terciaria de las proteínas también influye la clase de residuos de los aminoácidos, los cuales se organizan en función de su polaridad: hidrofílicos en la superficie externa de la proteína, hidrofóbicos en el interior de la proteína, y los de polaridad intermedia, a ambos lados de la proteína.

4. Estructura cuaternaria: esta estructura es exclusiva de las proteínas oligoméricas, esto es, aquellas que poseen más de una cadena unidas por enlaces covalentes. Los protómeros se interrelacionan principalmente mediante enlaces débiles no covalentes o también por enlaces disulfuro. Existen algunas proteínas que poseen grupos químicos diferentes a aminoácidos, tales como lípidos, carbohidratos o metales, llamadas proteínas conjugadas, siendo su grupo no peptídico el prostético. Ejemplos de proteínas conjugadas (y sus grupos prostéticos) son: lipoproteínas (lípidos), glicoproteínas (carbohidratos), metaloproteínas (metales), fosfoproteínas (fosfatos), hemoproteínas (grupo hemo), o flavoproteínas (nucleótidos flavínicos).

Solubilidad de las proteínas

La solubilidad de las proteínas globulares está afectada por los siguientes factores:

1. Adición de sales: puede aumentar (*salting in*) o disminuir (*salting out*) la solubilidad de una proteína. En el caso del *salting out* ocurre precipitación de la proteína, pues los iones de la sal compiten con la proteína por las moléculas de agua que las rodean, permitiendo que las partículas de proteína se aproximen unas a otras, agrupándose y precipitando. Esta técnica es usada para fraccionar proteínas en solución debido a que las propiedades de solubilidad varían dependiendo de cada proteína.

2. Adición de solventes orgánicos: los solventes orgánicos tienen baja constante dieléctrica, esto es, poseen poca capacidad para mantener dos cargas separadas, permitiendo que las moléculas de proteína interactúen entre sí y precipiten.

3. Calentamiento: en forma moderada el calor ayuda a disolver las proteínas, pero pasando cierto límite, el cual varía de acuerdo a la proteína, ocurre desnaturación de esta. La proteína desnaturada pierde su estructura terciaria debido a la pérdida de las interacciones débiles, se desdobla, formando una estructura aleatoria, y se precipita, aunque sin perder su estructura primaria, esto es, sin que ocurra ruptura de los enlaces peptídicos y por tanto sin pérdida de sus características nutricionales. No obstante, en la desnaturación ocurre pérdida de la acción biológica de la proteína, pues esta acción depende de la estructura terciaria (proteína nativa).

4. Variación del pH: el pH afecta el grado de ionización de los grupos disociables en los residuos de los aminoácidos, o sea que el pH afecta la carga de las proteínas. El punto isoeléctrico (pI) de una proteína es el pH en el cual la carga líquida de la proteína es igual a cero. Generalmente en ese pH las moléculas de la proteína se agrupan y precipitan, debido a que son afectadas las uniones

electrostáticas que mantienen la estructura terciaria de la proteína. Las características eléctricas de las proteínas son una propiedad que es utilizada para separarlas mediante la técnica de electroforesis. En esta técnica las proteínas migran en un soporte sometido a un campo eléctrico, separándose de acuerdo a su carga y a su peso molecular, tiñéndolas después para poderlas visualizar y cuantificar.

Funciones de las proteínas

Las proteínas son las moléculas más abundantes y más versátiles de las células. Entre sus múltiples funciones están las siguientes:

1. Estructura: muchas proteínas sirven de soporte estructural o protector en diversos organismos. Por ejemplo, colágeno en tendones, cartílagos y tejido conjuntivo; elastina en ligamentos; queratina en cuernos, cascos, pelo, plumas, uñas y caparazones; fibroína en la seda y en las telas de araña; resilina en las alas de los insectos.

2. Hormonas: gran número de hormonas son proteínas o péptidos. Los órganos endocrinos que producen hormonas proteicas incluyen hipotálamo, hipófisis, páncreas, paratiroides, tracto gastrointestinal y placenta.

3. Enzimas: estos compuestos ejemplifican la gran diversidad de las proteínas existentes, ya que son catalizadores biológicos altamente específicos para cada sustrato. Actualmente existen más de dos mil enzimas clasificadas.

4. Transporte: las proteínas en la sangre son el vehículo de transporte de muchos nutrientes. Las lipoproteínas transportan triglicéridos, fosfolípidos y colesterol, la hemoglobina transporta O_2 dentro de los eritrocitos, la transferrina transporta hierro, la ceruloplasmina transporta cobre, la albúmina transporta ácidos grasos, calcio y hormonas esteroides; ciertos tipos de globulinas transportan hormonas esteroides y tiroidianas.

5. Receptores: muchas hormonas actúan a través de receptores proteicos localizados en las membranas plasmáticas, en el citosol o en el núcleo de las células blanco.

6. Defensa: las inmunoglobulinas o anticuerpos son proteínas producidas por los linfocitos B especializadas en defender el organismo de elementos extraños. El fibrinógeno y la trombina son proteínas de defensa que actúan en la coagulación sanguínea.

7. Contracción: actina y miosina son proteínas que hacen parte de la estructura de la célula muscular y tienen la propiedad de contracción muscular. La tubulina y la dineína son también proteínas contráctiles que actúan en cilios y flagelos, así como en la cauda de los espermatozoides para permitir su locomoción.

8. Reserva de nutrientes: la albúmina es una proteína de la sangre que sirve como almacenadora de aminoácidos; la ovoalbúmina es proteína de reserva de nutrientes en el huevo, y la caseína tiene esta función en la leche; la ferritina es una proteína que almacena hierro.

3.2 Digestión y absorción de las proteínas

Animales monogástricos

Las proteínas que llegan al tracto gastrointestinal de los animales monogástricos son atacadas en primera instancia en el estómago por el ácido clorhídrico (HCl), secretado por las células parietales de las glándulas gástricas, lo que causa desnaturación proteica. También actúa la pepsina (peso molecular 33 kDal), enzima proteolítica secretada por las células principales del epitelio gástrico en la forma de pepsinógeno (peso molecular 40 kDal), el cual es rápidamente activado a pepsina debido al medio ácido del estómago (pH alrededor de 2,0). La contribución del estómago para el proceso digestivo de las proteínas es del 20 %. La pepsina hidroliza las proteínas en su extremo aminoterminal, donde haya aminoácidos aromáticos (Tyr, Phe, Trp). La digestión de las proteínas es completada en el duodeno, donde las enzimas proteolíticas secretadas por el páncreas terminan de hidrolizar los péptidos. Estas enzimas (tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa) son secretadas como zimógenos inactivos (tripsinógeno, quimotripsinógeno y procarboxipeptidasa). El tripsinógeno es activado a tripsina por una enzima secretada por las células intestinales: la enteropeptidasa. La tripsina puede

activar el quimotripsinógeno y la pro-carboxipeptidasa. La tripsina y la quimotripsina atacan los enlaces peptídicos de la proteína con diferente especificidad: la tripsina ataca uniones Lys-Arg y la quimotripsina ataca el extremo carboxilo donde haya Phe, Tyr o Trp. La carboxipeptidasa, junto con otras enzimas secretadas por las células de la mucosa duodenal, como aminopeptidasa y dipeptidasa, son exopeptidasas, o sea que atacan solamente enlaces peptídicos de aminoácidos terminales.

La secreción enzimática está controlada hormonalmente: la actividad secretoria en el estómago es controlada por la gastrina (17 aminoácidos), hormona secretada por las células G de la región pilórica del estómago, y que estimula las células parietales para secretar ácido clorhídrico. El estímulo para la secreción de gastrina es la presencia de proteínas en el estómago y la excitación del nervio vago. La colecistoquinina (CCK), hormona polipeptídica de 33 aminoácidos, es secretada por la mucosa del duodeno y del yeyuno, por estimulación vagal y la presencia de péptidos en el tracto digestivo. Esta hormona estimula la secreción enzimática del páncreas, además de aumentar la motilidad del estómago y del intestino, al tiempo que estimula la secreción biliar y la contracción vesicular. La acción de la CCK es ayudada por la secretina, otra hormona intestinal de 27 aminoácidos, que estimula el páncreas para secretar bicarbonato y así elevar el pH intestinal a cerca de 7,0, lo cual es necesario para alcanzar el pH óptimo de las enzimas proteolíticas del páncreas. Otras hormonas tienen función inhibitoria sobre la secreción gástrica: la secretina, el péptido gástrico inhibitorio (GIP) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP).

Los productos resultantes de la hidrólisis enzimática de las proteínas son aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos, que son absorbidos en los 2/3 proximales del intestino delgado. La absorción de los aminoácidos y de los oligopéptidos producidos por la hidrólisis de los péptidos se realiza por un mecanismo activo. Después de absorbidos, en la célula epitelial del intestino delgado se realiza una hidrólisis total para que solo salgan aminoácidos libres al sistema portal hepático. La única excepción a este tipo de absorción se observa en los mamíferos neonatos, en los cuales ocurre absorción de inmunoglobulinas del calostro en las primeras 48 horas de vida, mediante un mecanismo de pinocitosis. Este evento es especialmente importante en especies con placentación epitelio-corial (rumiantes, cerda, yegua), en las cuales no hay mezcla de sangre materna y fetal durante la gestación, por tanto, no hay transmisión placentaria de γ-globulinas.

Animales rumiantes

Las proteínas que entran al rumen son rápidamente degradadas por los microorganismos hasta aminoácidos, los cuales son reutilizados por las bacterias para sintetizar sus propias proteínas. Parte de los aminoácidos son degradados hasta amonio y esqueletos carbonados. Estos últimos sufren fermentación hasta ácidos grasos volátiles. Las bacterias del rumen son especialmente activas en los procesos de síntesis proteica y pueden utilizar como sustratos para esa síntesis, además de los aminoácidos, otras fuentes de nitrógeno no proteico (amonio, nitratos, amidas) como precursores para formar nuevos aminoácidos. Los protozoarios suplen sus necesidades de proteínas consumiendo bacterias. La urea que ingresa al rumen, sea con la dieta o con la saliva, es rápidamente atacada por la ureasa, enzima de origen bacteriano que la hidroliza en dos moléculas de amonio, liberando CO_2:

$$H_2N{-}CO{-}NH_2 + H_2O \rightarrow CO_2 + 2\ NH_4^+$$

El NH_4^+ en el rumen, en presencia de adecuada cantidad de compuestos energéticos que sirvan de fuente de esqueletos carbonados, actúa como sustrato para que las bacterias puedan sintetizar aminoácidos, los cuales a su vez son necesarios para la síntesis de proteína bacteriana. El NH_4^+ en exceso en el rumen se absorbe en la forma de NH_3, y vía portal va al hígado, donde se metaboliza en el ciclo de la urea. Esta sustancia puede pasar a la circulación (donde recibe el nombre de BUN o nitrógeno ureico sanguíneo) y ser excretada por la orina, por la leche, o reciclada de nuevo al rumen vías sanguínea o salivar. Los anteriores eventos permiten que el rumiante economice compuestos nitrogenados y obtenga proteína a partir de fuentes de nitrógeno no proteico, como la urea, que es utilizada como fuente suplementaria en la dieta de esos animales. La proteína microbiana es digerida en el abomaso y el intestino de igual forma que en los monogástricos, con absorción de aminoácidos en el duodeno y el yeyuno. En el ciego ocurre hidrólisis proteica, pero no hay absorción de aminoácidos.

3.3 Catabolismo de las proteínas

Los aminoácidos, unidades estructurales de las proteínas, pueden oxidarse para contribuir con producción de energía en el organismo. Las proteínas que se degradan para obtener aminoácidos con destino a la oxidación pueden provenir de la dieta (proteínas exógenas) o del propio organismo (proteínas endógenas). El tipo de alimentación influye marcadamente en el origen de estas proteínas: los animales carnívoros pueden obtener 90 % de los requerimientos de energía a partir de las proteínas de la dieta, mientras que en los herbívoros solo una pequeña fracción de las necesidades energéticas son cubiertas por proteínas exógenas. También ocurre degradación oxidativa de los aminoácidos cuando hay un exceso de ingestión de proteínas en la dieta y para metabolizar parte de los aminoácidos producidos en la proteólisis intracelular, la cual ocurre normalmente en todos los tejidos del organismo. La degradación de los aminoácidos incluye su desaminación. El grupo NH_4^+ debe ser rápidamente metabolizado debido a su toxicidad, sea mediante su incorporación a otros aminoácidos para ser reciclado, o mediante su excreción en la forma de urea (en los mamíferos) o de ácido úrico (en las aves).

Catabolismo de los aminoácidos

Los aminoácidos son degradados oxidativamente cuando están en exceso, en el caso de dietas con un nivel de proteínas que exceda las necesidades del organismo, en situaciones en que las necesidades energéticas obligan a usar aminoácidos como fuente de energía (agotamiento de las reservas de glicógeno y de triglicéridos), o en el caso de proteólisis intracelular. Aunque poco se conoce sobre esta última, se sabe que se realiza a una velocidad elevada, evidenciada por el constante retorno metabólico (*turnover*) de las proteínas endógenas. Las proteínas endógenas pueden sufrir hidrólisis hasta aminoácidos, que pueden ser reciclados para la síntesis de nueva proteína, o funcionar como sustratos energéticos. Por otro lado, si el organismo está en balance positivo de proteínas (mayor ingreso que gasto), la proteólisis endógena aumenta. En caso de balance neutro, la proteólisis endógena también ocurre, aunque a una velocidad menor. En ese caso se considera que la tasa de retorno metabólico diario de las proteínas está en torno de 0,6 % del peso corporal (por ejemplo, una vaca de 500 kg degrada 3.000 g de proteína endógena por día). El 25 % de esa proteína, en la forma de aminoácidos, es completamente oxidada para la producción de energía o es convertida en precursores gliconeogénicos para la formación de glucosa. El 75 % restante se recicla para formar nueva proteína.

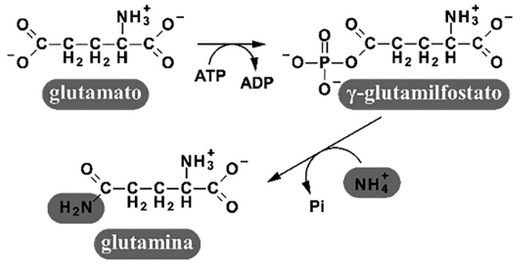
La degradación oxidativa de los aminoácidos se realiza por rutas catabólicas específicas, diferentes para cada uno de los veinte aminoácidos proteicos, aunque todas las rutas convergen en uno de los siguientes metabolitos: piruvato, acetil-CoA o compuestos intermediarios del ciclo de Krebs. Con excepción de los que convergen en acetil-CoA, los aminoácidos constituyen sustratos precursores de la gliconeogénesis. El grupo amina de los aminoácidos (NH_4^+) se excreta en forma de urea, ácido úrico o amonio, dependiendo de la especie animal. El catabolismo de los aminoácidos tiene lugar en el hígado, principalmente, y una menor parte en el riñón. La primera etapa de la degradación oxidativa de los aminoácidos es la separación del grupo amina, la cual se realiza mediante dos rutas integradas: transaminación y desaminación oxidativa.

Transaminación

Las reacciones de transaminación de los diferentes aminoácidos son realizadas por enzimas específicas llamadas transaminasas o aminotransferasas, que utilizan como sustrato, además del aminoácido, el α-cetoglutarato, transfiriendo el grupo amina del aminoácido para el carbono α del α-cetoglutarato y formando el α-cetoácido análogo del aminoácido más glutamato. Las aminotransferasas requieren como coenzima el piridoxal-fosfato (forma enzimática de la vitamina B_6), el cual se encuentra como grupo prostético de las transaminasas. Esas enzimas catalizan las reacciones conocidas como 'biomoleculares ping-pong': el primer sustrato (aminoácido) se une al sitio activo de la enzima y pierde su grupo amina, produciéndose un α-cetoácido. Este grupo es tomado por el piridoxal-fosfato, que se transforma en piridoxamina-fosfato. Después entra el segundo sustrato (α-cetoglutarato), el cual acepta el grupo amina de la piridoxamina, convirtiéndose en glutamato. Debido a esas reacciones los grupos amina de los diversos aminoácidos son recogidos en un único aminoácido: glutamato. Las reacciones de transaminación son termodinámicamente reversibles ($\Delta G^{o'} = 0$ kJ/mol).

Desaminación oxidativa

Mediante la desaminación oxidativa el glutamato que recoge los grupos amina de varios aminoácidos en las reacciones de transaminación es oxidado y desaminado, por acción de la enzima glutamato deshidrogenasa, mediante una reacción que ocurre en la mitocondria de los hepatocitos. La glutamato deshidrogenasa es una enzima alostérica (peso molecular 330 kDal) que tiene seis subunidades idénticas, siendo estimulada por ADP, GDP y algunos aminoácidos, e inhibida por ATP, GTP y NADH. Requiere de NAD^+ (o $NADP^+$) como receptor de los electrones. La acción combinada de las transaminasas y la glutamato deshidrogenasa se conoce como 'transdesaminación'. Cuando la célula está necesitando de energía (mayor relación ADP/ATP), la acción de la glutamato deshidrogenasa aumenta para suministrar α-cetoglutarato en el ciclo de Krebs. Cuando hay suficiente energía, el GTP producido en el ciclo de Krebs inhibe la glutamato deshidrogenasa. El NH_4^+ formado puede ser reutilizado para la síntesis de nuevos aminoácidos o ser excretado en forma de urea, en el caso de los vertebrados terrestres (animales ureotélicos), en forma de ácido úrico en los reptiles y en las aves (animales uricotélicos), o en forma de amonio en los peces (animales amoniotélicos). El grupo amina de muchos tejidos es transportado para el hígado como glutamina por la acción de la enzima glutamina sintetasa, en una reacción que requiere de ATP para activar el glutamato y que tiene dos etapas:

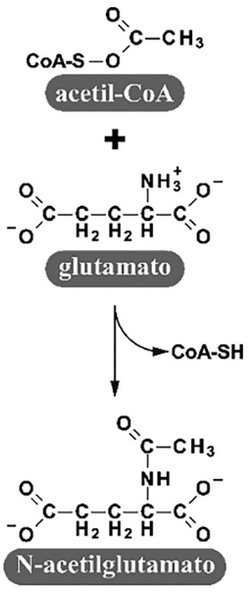


En la mitocondria hepática el amonio se libera de la glutamina para formar glutamato mediante la enzima glutaminasa. La glutamina es el principal transportador de NH_4^+ en la sangre, teniendo mayores niveles sanguíneos que cualquier otro aminoácido. Su estructura, sin las cargas eléctricas del glutamato, facilita su paso a través de las membranas. El grupo amina también puede ser transportado desde los tejidos (especialmente desde el músculo) al hígado por la alanina, debido a la acción de la enzima alanina aminotransferasa (ALT), que actúa reversiblemente en ambos tejidos (**Figura 3.3**). La alanina, sin cargas eléctricas en su residuo, atraviesa fácilmente las membranas. La anterior reacción sirve también para remover el piruvato del músculo, producido en la glicólisis. El piruvato puede ser llevado al hígado, donde sirve de precursor de glucosa vía gliconeogénesis. La glucosa puede volver al músculo para servir de fuente de energía ('ciclo glucosa-alanina').

Ciclo de la urea

Los animales ureotélicos sintetizan urea a partir del grupo amina liberado por los aminoácidos, mediante una serie de reacciones conocidas como el ciclo de la urea, vía descrita por Krebs y Henseleit en 1932, antes de ser dilucidado el ciclo del ácido cítrico. En ese proceso, que se realiza en el hígado, se incorporan dos grupos amina y un CO_2 en la molécula de urea. Las dos primeras reacciones del ciclo ocurren en la mitocondria del hepatocito y las restantes en el citosol. Las reacciones del ciclo de la urea son las siguientes (los números entre corchetes corresponden a las enzimas de la **Figura 3.4**).

(a) Condensación de NH_4^+ y CO_2: el CO_2 producido en la respiración celular y el amonio se condensan por medio de la enzima carbamil-fosfato sintetasa-I [4], reacción que es altamente endergónica, requiriendo dos ATP (la forma II de la enzima está en el citosol). La carbamil-fosfato sintetasa es una enzima regulatoria que tiene como modulador estimulatorio el N-acetilglutamato, compuesto producido a partir de acetil-CoA y glutamato por la enzima N-acetilglutamato sintetasa:



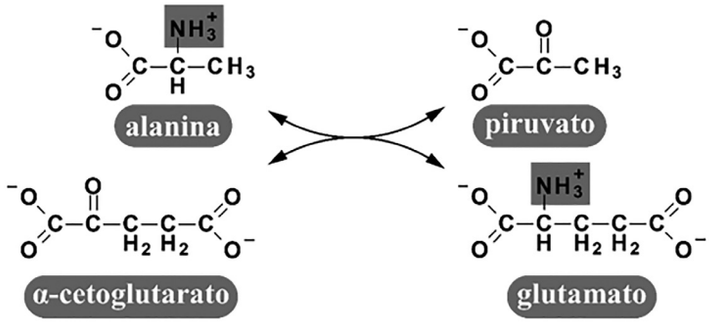


Figura 3.3. Reacción de transaminación catalizada por la enzima alanina aminotransferasa (ALT).

El grupo amino que es transferido del aminoácido para el α-cetoácido está resaltado en fondo gris.

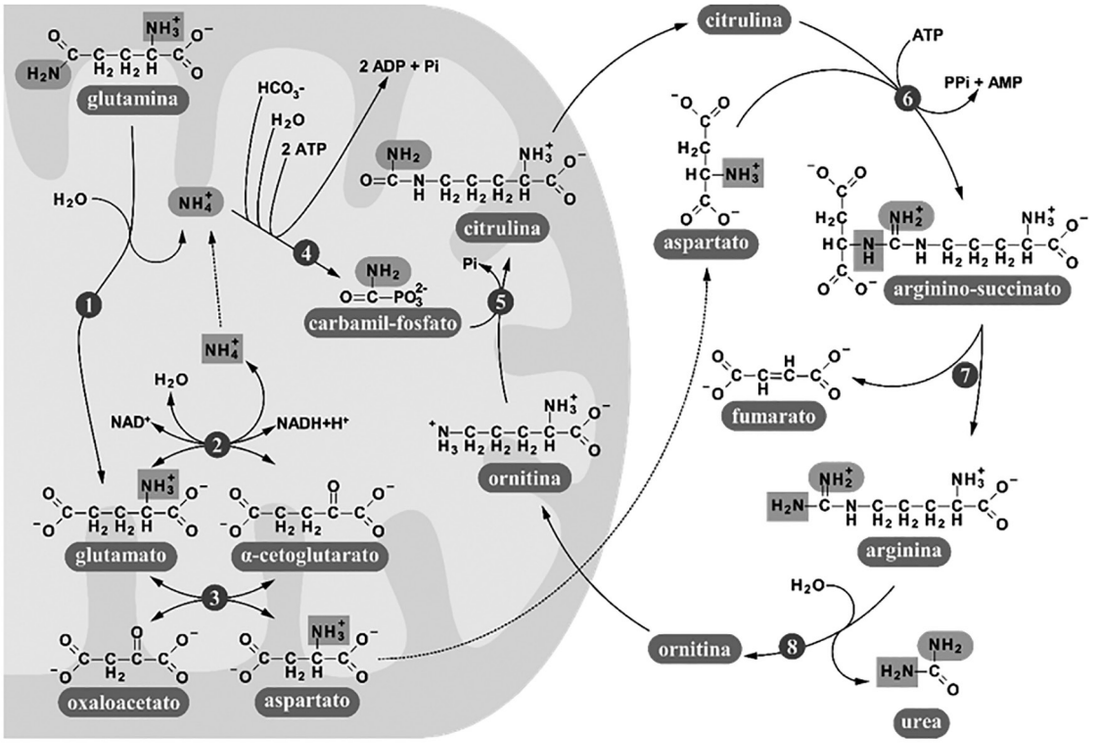


Figura 3.4. Ciclo de la urea

Los dos grupos amino de la glutamina que harán parte de la urea están resaltados en fondo gris. Para facilitar la identificación, uno de ellos tiene bordes rectos y el otro bordes redondos. Las principales enzimas están indicadas: [1] glutaminasa, [2] glutamato deshidrogenasa, [3] aspartato aminotransferasa, [4] carbamil-fosfato transferasa, [5] ornitina-carbamil transferasa, [6] arginina-succinato sintetasa, [7] arginina-succinato liasa, [8] arginasa.

La enzima N-acetilglutamato sintetasa, a su vez, es estimulada por la arginina, compuesto intermediario del ciclo de la urea, que se acumula cuando el ciclo se torna más lento. Así, la arginina estimula la formación de N-acetilglutamato y este estimula la acción de la carbamil-fosfato sintetasa para aumentar la velocidad de ciclo de la urea.

(b) Formación de citrulina: el aminoácido ornitina entra en la mitocondria para condensarse con el grupo

carbamil-fosfato y formar citrulina, a través de la acción de la enzima ornitina-carbamil transferasa [5], reacción facilitada por la hidrólisis del grupo fosfato del carbamil-fosfato. Hasta aquí las reacciones ocurren en la mitocondria. Después, la citrulina abandona la mitocondria para continuar el ciclo en el citosol.

(c) Condensación del aspartato con la citrulina: el aminoácido aspartato (que introduce otro grupo amina en el ciclo) se condensa con la citrulina en una reacción que consume energía, catalizada por la enzima arginina-succinato sintetasa [6]. El AMP producido en la reacción anterior debe ser convertido en ADP mediante la participación de un ATP, lo cual significa que en esta reacción se gastan, realmente, dos ATP.

(d) Excisión de la arginina-succinato: esta quiebra, mediante la enzima arginina-succinato liasa [7], origina fumarato, que ingresa en la mitocondria como intermediario del ciclo de Krebs, más el aminoácido arginina.

(e) Hidrólisis de la arginina y formación de urea: reacción catalizada por la arginasa [8], la cual tiene como cofactor Mn^{2+} para dar urea y reponer la ornitina, cerrando el ciclo. La ornitina vuelve a la mitocondria a fin de reiniciar un nuevo ciclo, y la urea puede ir al riñón vía sanguínea para ser excretada por la orina. La reacción global del ciclo de la urea se puede escribir así:

$$2\ NH_4^+ + HCO_3^- + 3\ ATP + 2\ H_2O \downarrow$$
$$urea + 2\ ADP + 4\ Pi + AMP + 5\ H^+$$

La formación de urea es un proceso endergónico, de alto costo energético, en el que se gastan cuatro ATP: dos para formar carbamil-fosfato, uno para formar arginino-succinato y otro para transformar el AMP que se produce en la formación de arginino-succinato en ADP.

En los rumiantes los niveles sanguíneos de urea son elevados (23-58 mg/dL) debido a la absorción de amonio por el rumen. En estos animales el amonio se debe metabolizar en el hígado para dar urea, la cual se recicla regresando al rumen vías sanguínea o salivar, lo que significa un ahorro de la energía necesaria para la formación de urea y agua para su excreción. En los animales carnívoros la concentración de urea está entre 21 a 60 mg/dL.

La compartimentación en la mitocondria de las primeras dos reacciones del ciclo de la urea impide la salida para la sangre del ión amonio, el cual es altamente tóxico. Esa toxicidad se debe a que el amonio se puede incorporar en el α-cetoglutarato, compuesto intermediario del ciclo de Krebs, para dar glutamato, mediante la enzima glutamato deshidrogenasa (enzima [2], **Figura 3.4**). Un elevado nivel de NH_4^+ puede extraer demasiado α-cetoglutarato y, eventualmente, detener el ciclo de Krebs y la cadena respiratoria, siendo especialmente sensible el tejido cerebral. Por otro lado, la forma protonada del amonio se disocia en el pH sanguíneo (pK = 9,5):

$$NH_4^+ \rightarrow NH_3 + H^+$$

A pH 7,0 la mayoría del amonio se encuentra en la forma protonada (NH_4^+). Sin embargo, cuando hay exceso de NH_4^+, una parte resulta en NH_3 provocando alcalinidad en los tejidos y causando fallas en el metabolismo celular.

En los peces el amonio se incorpora en el glutamato para formar glutamina en el hígado:

$$Glutamato + NH_4^+ + ATP \rightarrow Glutamina + ADP + Pi$$

En el riñón la glutamina se vuelve a desaminar liberando amonio directamente por la orina:

$$Glutamina \rightarrow Glutamato + NH_4^+$$

El amonio en la sangre de los peces también puede ser eliminada directamente en el agua por las branquias. La excreción de amonio en forma de urea es dependiente de una gran disponibilidad de agua en el organismo. En las aves, cuyo peso corporal total tiene poca proporción de agua, a fin de permitir el vuelo, así como en los reptiles, que viven generalmente en ambientes áridos, el amonio se excreta en forma de ácido úrico, una purina que es intermediaria del catabolismo de los nucleótidos.

Vías catabólicas de los esqueletos carbonados de los aminoácidos

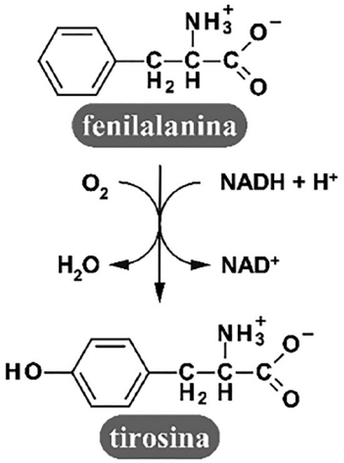
El catabolismo de los aminoácidos no es una vía tan activa como la glicólisis o la oxidación de los ácidos grasos. Las rutas catabólicas de los aminoácidos varían en su actividad, dependiendo de las necesidades

energéticas o biosintéticas del organismo. Existen veinte vías catabólicas, una para cada uno de los veinte aminoácidos proteicos, que convergen en cinco posibles productos finales, los cuales pueden ingresar en el ciclo de Krebs para seguir la oxidación total hasta CO_2 y H_2O, o para salir como precursores de la gliconeogénesis, dependiendo del estado metabólico del organismo. Diez aminoácidos pueden terminar en acetil-CoA, cinco terminan en α-cetoglutarato, cuatro en succinato, dos en fumarato y dos en oxalacetato; empero, varios de esos aminoácidos pueden tener otras rutas.

Vía acetil-CoA

Diez aminoácidos pueden terminar en acetil-CoA para entrar en el ciclo de Krebs: cinco de ellos vía piruvato y los restantes cinco pueden dar acetoacetil-CoA, el cual se rompe para dar dos moléculas de acetil-CoA. Los aminoácidos que generan piruvato son alanina, glicina, serina, cisteína y triptófano. Los aminoácidos triptófano, lisina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina producen acetil-CoA y/o acetoacetil-CoA. Estos últimos aminoácidos son llamados 'cetogénicos', aunque fenilalanina y tirosina también pueden producir fumarato, el triptófano puede asimismo formar piruvato y la isoleucina producir succinil-CoA vía propionil-CoA. Leucina es el único aminoácido rigurosamente cetogénico, esto es, que solo puede terminar en acetil-CoA.

En humanos existe una falla genética relacionada con el catabolismo de la fenilalanina: una deficiencia en la síntesis de la enzima fenilalanina hidroxilasa, que convierte fenilalanina en tirosina:



La enzima es una oxidasa que utiliza O_2 directamente para oxidar la fenilalanina: un oxígeno se incorpora como grupo hidroxilo (OH) para formar tirosina y el otro se reduce para dar H_2O, utilizando NADH. La enzima requiere como cofactor tetrahidrobiopterina, que funciona como transportador de los electrones desde NADH hasta O_2. La deficiencia de fenilalanina hidroxilasa se conoce como fenilcetonuria y consiste en la acumulación de fenilalanina, la cual no se puede metabolizar normalmente. La fenilalanina toma una vía secundaria en la que ocurre transaminación con piruvato y formación de fenilpiruvato, metabolito que es descarboxilado para producir fenilacetato, cuerpo cetónico que da un olor característico a la orina. La fenilcetonuria se presenta en 8 de cada 100.000 individuos y puede causar severo retardo mental si no es tratada en el recién nacido.

Vía α-cetoglutarato

Los aminoácidos arginina, histidina, glutamato, glutamina y prolina son degradados vía α-cetoglutarato y entran directamente al ciclo de Krebs. Las vías catabólicas de todos esos aminoácidos terminan en glutamato, el cual es desaminado y oxidado para dar α-cetoglutarato por medio de la enzima glutamato deshidrogenasa (enzima [2], **Figura 3.4**).

Vía succinil-CoA

Los aminoácidos que son catabolizados vía succinato son metionina, isoleucina, treonina y valina. La isoleucina también puede generar acetil-CoA. Por esta vía los aminoácidos son convertidos en propionil-CoA, y a partir de este en succinil-CoA, mediante las mismas reacciones de la gliconeogénesis, que tiene como precursor el propionato. Esas reacciones son de vital importancia en los rumiantes, que dependen de esta ruta para convertir el propionato de origen ruminal en glucosa, vía succinil-CoA. Una enzima de esta ruta, la metilmalonil-CoA mutasa, es dependiente de la coenzima B_{12}.

Vía oxalacetato (OAA)

Solamente dos aminoácidos, aspartato y asparagina, son catabolizados vía OAA para entrar al ciclo de Krebs. La asparagina es desaminada por la enzima asparaginasa, generando aspartato:

$$\text{Asparagina} + H_2O \rightarrow \text{Aspartato} + NH_4^+$$

Después, el aspartato sufre transaminación con α-cetoglutarato para dar OAA, mediante acción de la enzima aspartato aminotransferasa (enzima [3], **Figura 3.4**). Los aminoácidos que forman piruvato o metabolitos intermediarios del ciclo de Kebs pueden formar glucosa vía gliconeogénesis y son llamados 'gliconeogénicos'. Cuatro aminoácidos pueden ser gliconeogénicos o cetogénicos, dependiendo de la ruta que sigan: triptófano, fenilalanina, tirosina e isoleucina.

3.4 Bioquímica del grupo hemo

El grupo hemo es un grupo orgánico funcional presente en varias proteínas, como la hemoglobina o los citocromos, y en algunas enzimas, como la catalasa. El grupo participa de reacciones de oxidorreducción o en el transporte de oxígeno, gracias a la presencia de un núcleo de hierro en su estructura.

Biosíntesis del grupo hemo

El grupo hemo puede ser producido prácticamente por todos los tejidos de los mamíferos, aunque su síntesis es más importante en la médula ósea (reticulocitos) y en el hígado, debido a las necesidades de hemoglobina y citocromos, respectivamente. El hemo está compuesto por un núcleo tetrapirrólico (anillo porfirínico) con un núcleo de hierro en su interior. El grupo deriva de ocho residuos de glicina y de succinil-CoA. Las principales etapas de biosíntesis se muestran en las **Figuras 3.5A** y **3.5B**. Los núcleos pirrólicos están unidos entre sí a través de puentes meteno. Cada núcleo pirrólico, en las posiciones de 1 a 8, pueden tener grupos funcionales que podrían ser de acetil, propionil, metil, etil y vinil. Cuando el núcleo tetrapirrólico no tiene esos grupos se llama porfina. Cuando hay grupos funcionales en las posiciones 1 a 8 se llaman porfirinas y tienen nombres específicos de acuerdo a los grupos presentes. Las porfirinas más abundantes que se encuentran en casi todos los vertebrados son las protoporfirinas, las cuales contienen cuatro grupos metil, dos vinil y dos propionil, existiendo varias formas isoméricas. La más abundante de esas formas es la protoporfirina IX (hemo), presente en la hemoglobina (Hb), la mioglobina (Mb), y en la mayoría de los citocromos, así como en las enzimas catalasa, peroxidasa y citocromo oxidasa. También se puede encontrar en forma libre como metabolito intermediario de los procesos de síntesis y degradación. Los grupos funcionales en cada posición de la protoporfirina IX están relacionados en la **Tabla 3.1**.

Las porfirinas son estables porque los puentes de metileno son oxidados, lo que permite la resonancia de los cuatro anillos pirrólicos. El hierro se liga a los cuatro N del núcleo de la protoporfirina IX y mediante dos enlaces se une a la porción proteica (globina en el caso de la Hb). Por tanto, el hierro queda con seis enlaces, siendo dos de ellos covalentes y cuatro de coordinación. El hierro en la forma reducida (ferrosa, Fe^{2+}) puede unirse al oxígeno. La forma oxidada (férrica, Fe^{3+}) no une O_2. El punto de control de la síntesis del hemo es la enzima δ-aminolevulinato (ALA) sintetasa de la mitocondria, la cual es inhibida por la hemina (ferriprotoporfirina) y requiere de piridoxal-fosfato como cofactor. Deficiencias de esa vitamina llevarán a disminución de la síntesis de hemo y, por tanto, de Hb (causando anemia). Los eritrocitos no tienen núcleo, mitocondrias ni ribosomas, así que no pueden realizar la vía metabólica de síntesis de la Hb, que es hecha por los reticulocitos en la médula ósea. Las únicas vías metabólicas que los eritrocitos pueden hacer son la glicólisis anaeróbica y la vía de las pentosas-fosfato.

Degradación del grupo hemo

Los eritrocitos tienen una vida media que varía de acuerdo a la especie: puede ser desde 30 días en las aves hasta 160 días en las vacas. En las demás especies los valores son de 60-80 días en perro, gato, cerdo y conejo, y de 120-150 días en la cabra, la oveja y el caballo. La vida media de los eritrocitos humanos es de 120 días. Los eritrocitos son retirados de la circulación por reconocimiento de cambios en la membrana y fagocitados por las células de Küpffer, del sistema retículo-endotelial (principalmente en la médula ósea, bazo e hígado).

Kuster, en 1899, fue el primero en relacionar la bilirrubina con la hemoglobina (Hb). La Hb responde por 85%-90% de los pigmentos biliares formados. Otras proteínas que contiene el grupo hemo en su estructura, como los citocromos, también producen bilirrubina. La degradación de la Hb se inicia con la liberación de globina (fracción proteica) de la fracción hemo. La globina sufre proteólisis hasta aminoácidos, los cuales pueden ser reutilizados. El catabolismo del grupo hemo de la Hb comprende: (a) la degradación del anillo de porfirina, que implica un sistema de procesamiento de sus productos hidrofóbicos, y (b) retención y movilización del hierro, así como su reutilización.

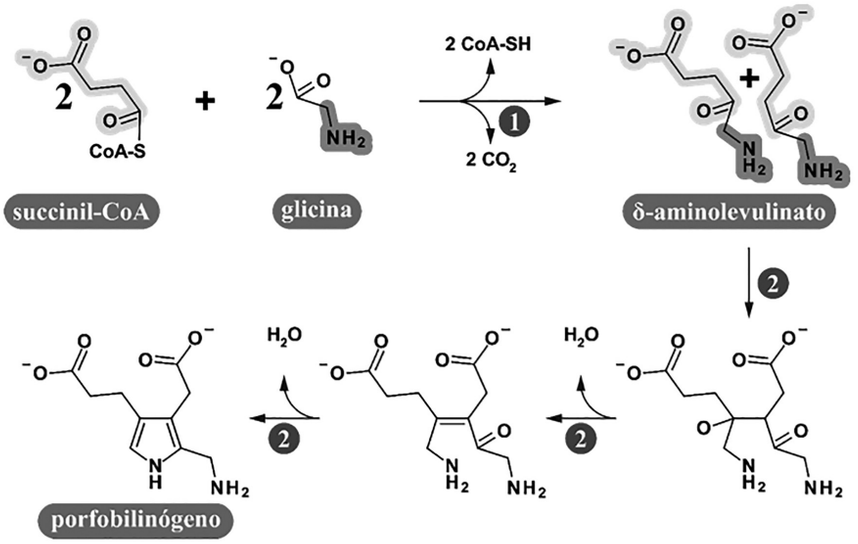


Figura 3.5A. Etapas iniciales de la biosíntesis de grupo hemo

Las partes de las moléculas del succinil-CoA y de la glicina que formarán el porfobilinógeno están resaltadas en fondo gris. Las enzimas son: [1] δ-aminolevulinato (ALA) sintetasa y [2] ALA deshidratasa.

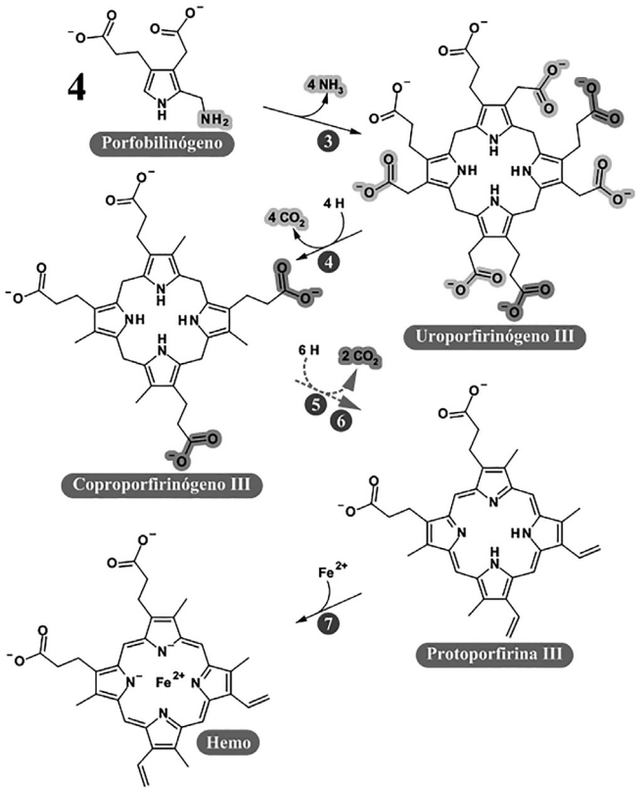


Figura 3.5B. Etapas finales de la biosíntesis de grupo hemo

Los grupos amino y carboxilo que son retirados en la forma de amonio y CO_2, respectivamente, están indicados en fondo gris. Reacciones múltiples están representadaas por flechas punteadas. Las enzimas son: [3] uroporfirinógeno sintetasa, [4] uroporfirinógeno descarboxilasa, [5] coproporfirinógeno oxidasa, [6] protoporfirinógeno oxidasa, [7] hemosintetasa (ferroquetalasa).

Tabla 3.1 Grupos funcionales en la estructura del hemo

Posición	Grupo
1	CH_3 (metil)
2	$CH=CH_2$ (vinil)
3	CH_3 (metil)
4	$CH=CH_2$ (vinil)
5	CH_3 (metil)
6	$CH_3-CH_2-COO^-$ (propionil)
7	$CH_3-CH_2-COO^-$ (propionil)
8	CH_3 (metil)

El grupo hemo (protoporfirina IX más hierro) es oxidado por la enzima hemooxigenasa (en el sistema microsomal), que utiliza O_2, liberando CO + Fe (única fuente de monóxido de carbono en el organismo). El hierro es oxidado de Fe^{2+} a Fe^{3+}. El grupo hemo sufre quiebra del puente α-meteno (fuente de CO) entre los grupos pirrólicos que tengan residuos de vinilo ($CH = CH_2$). El anillo, ahora linearizado y sin hierro, se abre, y el producto de la reacción es la biliverdina IX, primer pigmento biliar producido en la degradación. La biliverdina IX sufre reducción (adición de 2H) por la enzima biliverdina reductasa, que utiliza NADPH como coenzima para producir bilirrubina IX.

Metabolismo de la bilirrubina

La **Figura 3.6** presenta un esquema del metabolismo de los pigmentos biliares. La bilirrubina es producida no apenas por los eritrocitos seniles, sino por el catabolismo de las todas las proteínas que contienen el grupo hemo.

La bilirrubina libre es poco soluble en la sangre, siendo transportada por la albúmina y por la α_2-globulina hasta el hígado, donde es conjugada por la enzima glicuronil transferasa a diglicurónido de bilirrubina (**Figura 3.7**). La bilirrubina conjugada es soluble en el plasma y se excreta por la bilis y la orina. En el intestino, hidrolasas bacterianas reducen la bilirrubina para formar urobilinógeno, compuesto incoloro. El urobilinógeno en el intestino es oxidado a estercobilina, uno de los pigmentos de las heces (**Figura 3.8**). Parte del urobilinógeno en el intestino es reabsorbido y regresa a la corriente circulatoria a excretarse vía biliar o urinaria. Así, en la orina se puede encontrar tanto bilirrubina conjugada como urobilinógeno. La bilirrubina libre se une fuertemente a la albúmina, de forma que no se puede excretar por el riñón.

Del urobilinógeno producido en el intestino por reducción de la bilirrubina, 20% es reabsorbido y el resto es oxidado a estercobilina. La mayor parte de estercobilina se excreta con las heces y una pequeña parte puede ser reabsorbida, convertida en urobilina y excretada por la orina, confiriéndole su coloración amarilla. Del total de urobilinógeno reabsorbido, 90% es reexcretado por la bilis y solamente 10% entra en la sangre y puede ser excretado en la orina. Por tanto, el urobilinógeno presente en condiciones normales en la orina representa apenas 1%-2% del total producido. En la **Figura 3.9** se muestra el ciclo enterohepático normal de los pigmentos biliares. En el plasma se puede encontrar tanto bilirrubina conjugada o directa, como bilirrubina libre (de hecho unida a proteínas) o indirecta. Los términos 'directa' e 'indirecta' se refieren a que la bilirrubina conjugada reacciona directamente con el reactivo de Ehrlich (sales de diazonio) para rendir pigmentos azo, mientras que la bilirrubina libre solo reacciona después de la adición de etanol (indirectamente) para poder romper en enlace no covalente con la albúmina. En el laboratorio se determina la bilirrubina total por el método del metanol, propuesto por Malloy y Evelyn en 1937, y la bilirrubina conjugada (directa), por el método de Van der Bergh. La bilirrubina libre (indirecta) es calculada por diferencia entre la bilirrubina total menos la directa. Los valores sanguíneos referenciales de las bilirrubinas total y directa de algunas especies se muestran en la **Tabla 3.2**. El umbral renal de eliminación de bilirrubina conjugada es de 0,4 mg/dL. Una tercera forma de bilirrubina que se une covalentemente a la albúmina ha sido reportada en casos de disturbios hepatocelulares.

Variaciones de bilirrubinemia entre las especies

El caballo puede presentar una ictericia fisiológica debido al alto tenor de bilirrubina libre en condiciones normales, especialmente en ayuno (hasta 7 mg/dL), que se ve exacerbada con alto consumo de carotenoides y xantofilas. En hepatopatías el caballo puede tener niveles de hasta 25 mg/dL de bilirrubina total, siendo menos de 10% de ese valor bilirrubina conjugada. En la anemia hemolítica y en anemia infecciosa equina los niveles de bilirrubina total pueden ir a 70 mg/dL (la mayoría bilirrubina libre). La causa de la hiperbilirrubinemia de ayuno en los caballos es

debida a la disminución de la excreción por el hígado (debido a la ausencia de vesícula biliar), y no a una mayor producción del pigmento.

En los rumiantes, a diferencia de los equinos, no hay grandes aumentos de bilirrubina, aun en disturbios hepáticos. Se considera que hay ictericia cuando los niveles de bilirrubina directa en la sangre pasan de 2,0 mg/dL. En general se puede considerar que, si la bilirrubina en exceso es más de 50% conjugada, se trata de ictericia hepática, y si es más de 90 % conjugada se trata de una ictericia obstructiva. Niveles proporcionalmente mayores de bilirrubina libre reflejan una ictericia hemolítica. En bovinos y equinos es aconsejable utilizar otros indicadores de la función hepática, diferentes de bilirrubina (colesterol, albúmina, enzimas como ALT, GGT, LDH, FA). Se considera que un aumento muy grande de bilirrubina en bovinos, debido a una lesión hepática, representa un estado terminal con muy mal pronóstico.

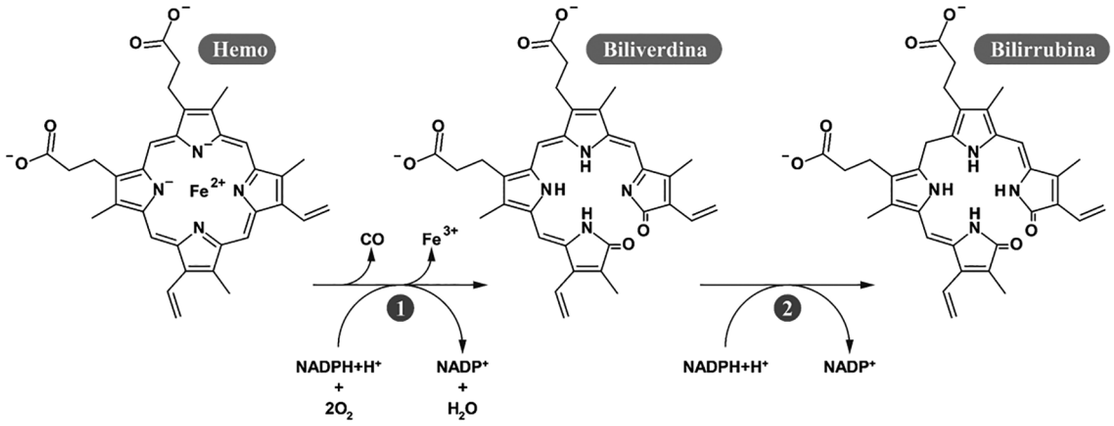


Figura 3.6. Catabolismo del hemo y formación de bilirrubina

Las enzimas participantes en esta parte de la ruta catabólica son: [1] hemo oxigenasa y [2] biliverdina reductasa.

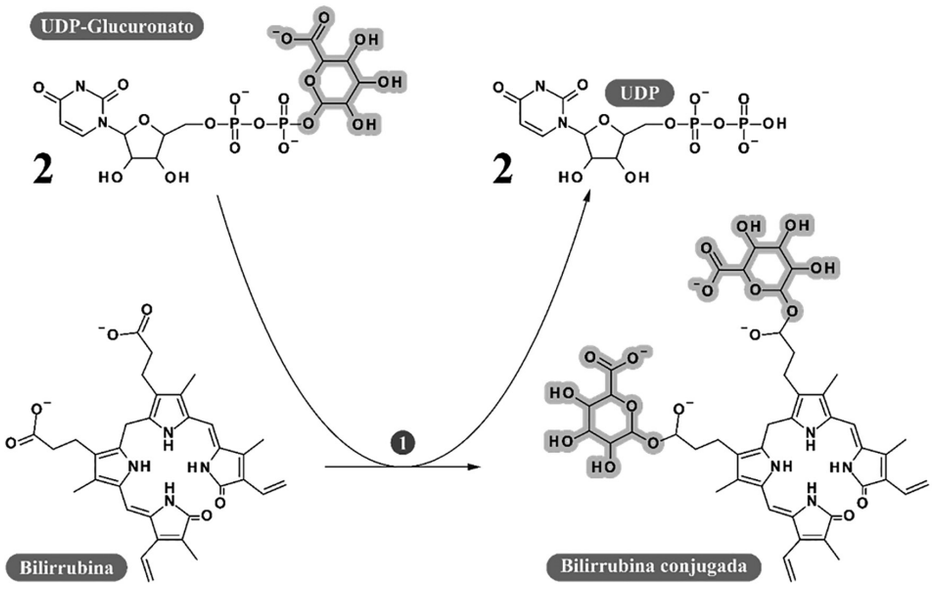


Figura 3.7. Conjugación hepática de la bilirrubina con UDP-glucuronato

Las moléculas del glucuronato que son transferidas para los grupos propionil de la bilirrubina están resaltadas en fondo gris. La enzima participante es: [1] glucuronato transferasa.

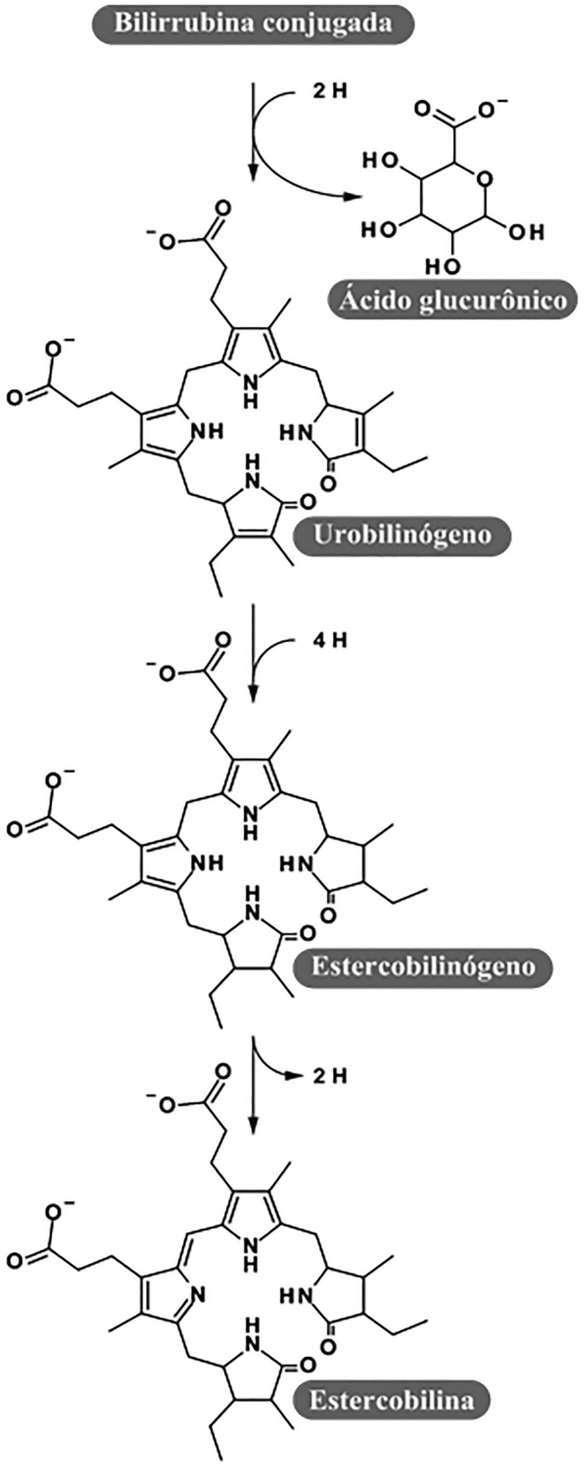


Figura 3.8. Modificaciones intestinales de la bilirrubina

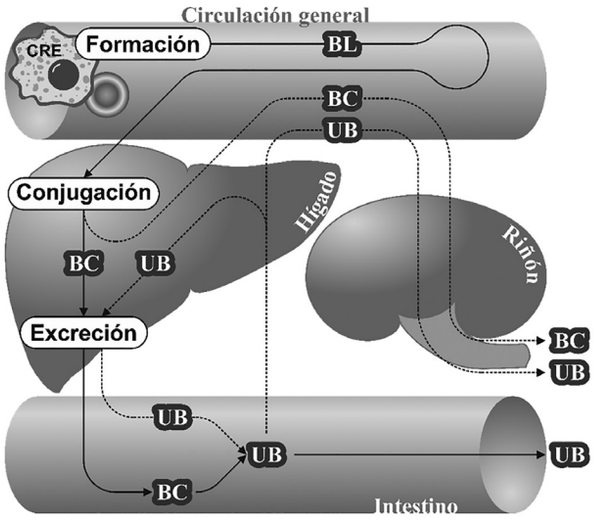


Figura 3.9. Circulación enterohepática fisiológica de pigmentos biliares

Las etapas de formación, de conjugación y de reducción intestinal de la bilirrubina conjugada, corresponden a las reacciones mostradas en las Figuras 3.6, 3.7 y 3.8, respectivamente. El espesor de las líneas tiene relación con la concentración de los metabolitos. La representación con línea punteada significa que la concentración es proporcionalmente muy baja. CRE, célula retículo-endotelial; BL, bilirrubina libre; BC, bilirrubina conjugada; UB, urobilinógeno.

Tabla 3.2 Valores de referencia de bilirrubina sanguínea (mg/dL) en algunas especies

Especie	Bilirrubina conjugada	Bilirrubina total
Bovinos	0,04-0,44	0,01-1,0
Equinos	0-0,4	1,0-2,0
Felinos	0-0,1	0,15-0,5
Porcinos	0-0,3	0-0,6
Caprinos	0-0,3	0-0,1
Ovinos	0-0,27	0,1-0,5
Caninos	0-0,14	0,1-0,6
Primates	0,03-0,05	0,4-0,5
Humano	0,2	< 1,0

En casi todas las especies puede ocurrir ictericia fisiológica en los neonatos, por la destrucción de eritrocitos. También se puede observar ictericia fisiológica en el ayuno y en la gestación. En ratas de la raza Wibster ha sido identificada una ictericia de origen hereditaria debido a un gen autosómico recesivo llamado *w*. Los animales afectados (*ww*) tienen defecto genético en la síntesis de la enzima glicuronato transferasa, que conjuga la bilirrubina libre, apareciendo altos niveles de bilirrubina en la sangre, como si fuera una hemólisis.

Pigmentos biliares en la orina

Normalmente se encuentran niveles muy bajos de bilirrubina conjugada en la orina de caballos, ovejas, cerdos y gatos. En el perro el umbral renal para bilirrubina conjugada es bajo. Así, en disturbios hepáticos en esta especie, el nivel sanguíneo de bilirrubina conjugada podría no aumentar mucho, pero el nivel en la orina puede estar bastante elevado (bilirrubinuria). En la hemólisis, sin embargo, los niveles de bilirrubina libre son elevados en la sangre, pues la bilirrubina libre no puede pasar la barrera renal. Si los aumentos de bilirrubina total en el perro están compuestos de 50% de bilirrubina conjugada, es indicativo de lesión hepatocelular.

En la obstrucción hepática (cálculos, tumores, parásitos), la bilirrubinuria es de mayor dimensión, siendo el tenor de bilirrubina en la orina directamente proporcional al grado de obstrucción. La bilirrubinuria también puede ocurrir, además de hepatopatías y obstrucciones extra-hepáticas, en situaciones febriles y, en bovinos, en reticulitis traumática y lipidosis hepática.

El nivel de urobilinógeno en la orina está aumentado en la ictericia hemolítica (anemias) y en disturbios hepáticos, así como en casos de insuficiencia cardíaca, por estasis hepática. El nivel de urobilinógeno está disminuido en la ictericia obstructiva, anemia hipocrómica (deficiencia de hierro), insuficiencia renal y depresión de la flora intestinal por uso de antibióticos.

Bioquímica de la respiración

El oxígeno en la sangre es transportado por dos vías: (a) como O_2 en solución, o (b) en combinación química con hemoglobina (Hb) en los eritrocitos. El transporte en la Hb es mucho más eficiente porque mientras la solubilidad de O_2 en la sangre es de 0,3 mL/dL, la Hb carga 1,34 mL de O_2/g de Hb. Como la concentración promedio de Hb en la sangre es de 15 g/dL, son transportados 20,1 mL/dL de sangre, o sea, 67 veces más que en solución. La Hb tiene cuatro subunidades proteicas, 2α y 2β cada una con un grupo hemo que puede cargar una molécula de O_2 en la unión con el ion Fe^{2+} (**Figura 3.10**):

$$\alpha_2\beta_2 \text{ (desoxi-Hb)} + 4O_2 \rightarrow \alpha_2\beta_2 \text{ (hemo-}O_2)_4 \text{ (oxi-Hb)}$$

Esta reacción es posible bajo la presión de O_2 en los alvéolos pulmonares (100 mmHg). En los alvéolos también hay CO_2 (40 mmHg), N_2 (571,8 mmHg) y H_2O (47 mmHg). La porción hemo de la Hb es idéntica en todos los vertebrados. La protoporfirina IX puede combinarse con Fe o con Mg, pero también con Zn, Ni, Cu, Co y Ag. Cuando se une con Fe se llama ferroprotoporfirina (Fe^{2+}) o hemo- y ferriprotoporfirina (Fe^{3+}) o hemin. La Hb unida a CO se llama carboxi-Hb, siendo fotosensible, pues en la presencia de luz libera el CO. La meta-Hb es la Hb con grupo hemin, o sea, con el hierro oxidado (Fe^{3+}), lo cual puede ocurrir por agentes oxidantes, como peróxidos, ferricianuro, nitritos y quinonas. La meta-Hb, presente en pocas cantidades bajo condiciones normales de la sangre, no puede unir O_2 ni CO. Puede ser reducida por ditionito de sodio ($Na_2S_2O_4$). Cuando la Hb se combina con el ion cianuro (CN^-) forma la ciano-Hb. Este ion también puede unirse a la meta-Hb y formar cianometa-Hb.

La cadena α de la Hb tiene 141 residuos de aminoácidos y la cadena β 146. Las dos cadenas tienen 80 aminoácidos homólogos. El peso molecular total de la Hb es de 65 kD. Sin embargo, la Hb puede presentar heterogeneidad:

(a) Hb fetal-adulta (HbF-HbA): las cadenas α son iguales, pero la HbF tiene dos cadenas γ homólogas con la cadena α de la HbA (difieren en 37 residuos). En el feto, del total de Hb, 15% son HbF y 85% son HbA. La HbF garantiza la entrega de O_2 de la circulación materna para la fetal porque tiene mayor afinidad por el O_2.

(b) Hb heterogéneas: en 10% de la Hb total del adulto existe HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$). La cadena δ difiere de la β en diez residuos de aminoácidos. No se conoce su función.

(c) Heterogeneidad genética: es anormal, existiendo más de trescientos tipos, casi siempre funcionales.

La Hb se une con el O_2 en cooperatividad positiva, esto es, a medida que la oxigenación aumenta, la

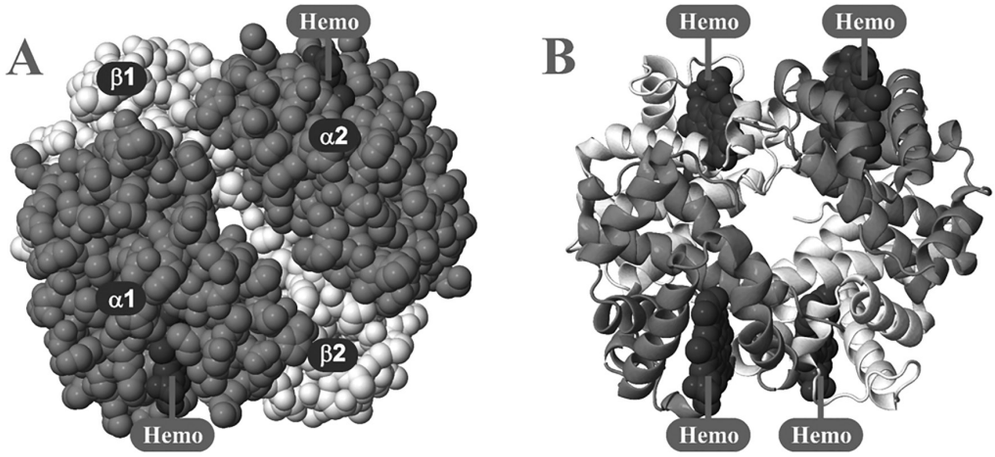


Figura 3.10. Estructura de la hemoglobina

En A, la molécula tiene sus átomos representados como esferas correspondientes a sus respectivos radios de Van der Waals (*spacefill*). En B, la molécula está representada en su estructura secundaria (*cartoon*).

combinación del grupo hemo de las otras cadenas de la Hb con moléculas adicionales de O_2 se vuelve más fácil (aumenta la afinidad por el O_2). Ese evento no ocurre en la mioglobina, pues solo tiene una cadena. La cooperatividad positiva se explica porque en la forma desoxidada (disociada) la Hb forma puentes electrostáticos entre las subunidades, los cuales se van rompiendo a medida que el O_2 se une a los grupos hemo, lo que facilita la unión con el O_2. Comparando las curvas de saturación de O_2 en la Hb y en la mioglobina, se observa que, mientras la curva de la mioglobina tiene una forma hiperbólica, la curva de la Hb tiene una forma sigmoidal. Esto indica que la presenca de O_2 en un grupo hemo tiene efecto en la constante de disociación del O_2 en los otros tres grupos de la misma molécula, siendo mayor en la cuarta disociación. La facilidad con que se une el O_2 en la cuarta subunidad es 150-300 veces mayor que la unión a la primera subunidad.

En la sangre arterial el porcentaje de saturación de la Hb es de 96%, mientras que en la sangre venosa es de 64%. Esto ocurre porque en la sangre arterial, la P_{50} (presión de O_2 necesaria para saturar 50% de la Hb) es de 26 mmHg, y la presión de O_2 es de 100 mmHg. La mioglobina tiene una menor P_{50}, pues esta proteína se satura con 40-50 mmHg (**Figura 3.11**).

Efecto del CO_2 sobre la afinidad Hb-O_2

El CO_2 existe en la sangre: (a) como bicarbonato en el plasma y el eritrocito; (b) unido a proteínas plasmáticas por los grupos amina formando grupos carbamina ($R\text{-}NH_2 + CO_2 \rightarrow R\text{-}NH\text{-}COO^- + H^+$); y (c) unido a Hb, formando carbamino-Hb. La Hb desoxidada une CO_2 con mayor afinidad que la HbO_2. La mayor proporción del CO_2 está como bicarbonato en el plasma. Su concentración en la sangre arterial es de 25,5 meq/L y en la sangre venosa es de 26,4 meq/L.

Se puede calcular la relación de bicarbonato/ácido carbónico en el plasma a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, sabiendo que el pK del ácido carbónico es de 6,1 y el pH sanguíneo es de 7,4:

$$pH = pK + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]}$$

$$7{,}4 = 6{,}1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]}$$

$$\log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]} = 1{,}3$$

$$\frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]} = 20$$

El CO_2 (y por tanto el pH) tiene efecto sobre la curva de disociación de O_2 en la Hb, desplazándola a la derecha (**Figura 3.12**).

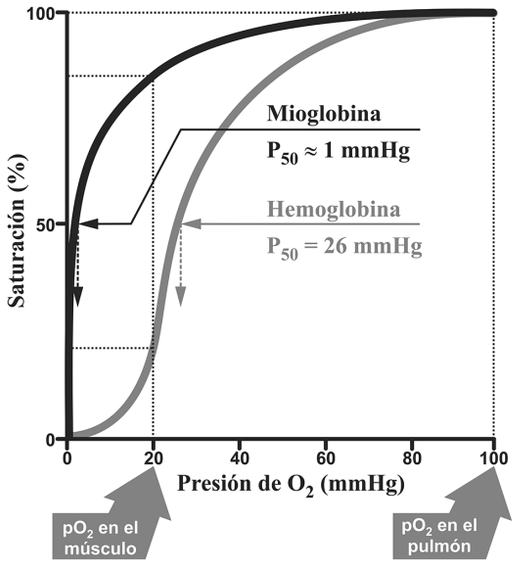


Figura 3.11. Curvas de saturación de la hemoglobina y la mioglobina con O_2.

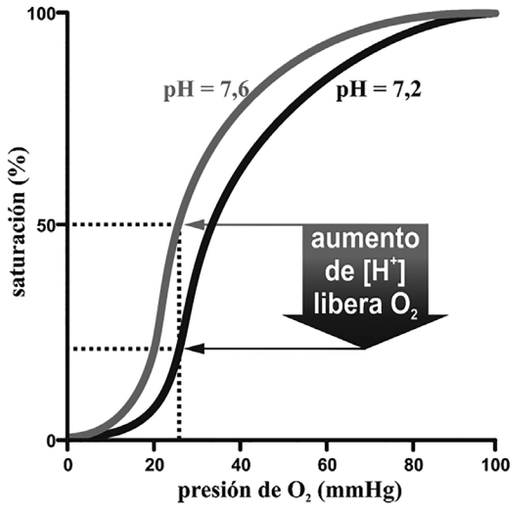


Figura 3.12. Efecto del pH sobre la curva de saturación de la hemoglobina con O2.

Mientras más a la derecha (menor pH) la curva de disociación de la Hb necesita de mayor presión de O_2 para oxigenar la Hb, o sea, el CO_2 disminuye la afinidad del O_2 por la Hb, de forma que también el O_2 se libera más fácilmente de la Hb. Este es conocido como 'efecto Bohr' (Bohr fue el descubridor de hidrógeno). Con Hb pura el efecto Bohr es atribuible al pH (concentración de H), el cual, a su vez, depende de cambios en la concentración de CO_2: el aumento en la concentración de CO_2 eleva la concentración de H^+, por tanto disminuye el pH:

$$CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^-$$

Así, en los tejidos periféricos, donde la concentración de CO_2 es mayor y por consiguiente la concentración de H^+ también es mayor, la afinidad O_2-Hb disminuye y el gas es liberado más fácilmente (facilita la oxigenación de los tejidos):

$$H^+ + HbO_2 \rightarrow O_2 + HbH^+$$

En el pulmón, donde la concentración de CO_2 es menor y el pH mayor, aumenta la afinidad O_2-Hb, lo que permite la saturación de la Hb con O_2 a una baja presión de CO_2:

$$HbH^+ + O_2 \rightarrow HbO_2 + H^+$$

El 2,3-difosfoglicerato (DPG) es un metabolito producido en la ruta de la glicólisis, que se encuentra dentro de los eritrocitos a una concentración de 4-5 mM, bajo condiciones normales. Sin embargo, cuando la presión de O_2 disminuye en la atmósfera (alturas por encima de 2.000 m s. n. m.), el DPG aumenta. Este metabolito afecta la afinidad del O_2 por la Hb uniéndose a la Hb en un complejo 1:1, y disminuye la afinidad de la Hb con el O_2 debido a que promueve la disociación:

$$HbO_2 + DPG \rightarrow Hb\text{-}DPG + O_2$$

Esto favorece la oxigenación de los tejidos en mayor altitud.

3.5 Trastornos relacionados con compuestos nitrogenados

Porfirias

El término 'porfiria' proviene del griego *porfirus*, que significa 'púrpura', debido a que la orina de los pacientes afectados tiene esa coloración. Varios personajes de la realeza británica (la reina Mary y el rey George III) y artistas (Van Gogh) sufrieron formas de porfiria. Se cree, además, que la leyenda del conde Drácula, en Rumania, está atribuida a una rara porfiria eritropoyética que él sufría, cuyos síntomas incluyen fotosensibilidad extrema, hipertricosis en el rostro y las extremidades y coloración roja de los dientes.

La formación de porfirinas está relacionada con la biosíntesis del grupo hemo. Desarreglos en el metabolismo de las porfirinas causan porfirias, trastornos en los que la biosíntesis del grupo hemo está alterada, lo cual resulta en la acumulación de precursores tóxicos. La mayoría de las porfirias son hereditarias y se caracterizan por el aumento en la concentración sanguínea de protoporfirina y en la excreción de uroporfirinas y coproporfirinas. Las porfirias se clasifican en dos grupos: porfirias eritropoyéticas y porfirias hepáticas. Estas últimas son más frecuentes en humanos que en animales.

Etiología de las porfirias

Las porfirias pueden deberse a dos causas: (1) marcado incremento de la actividad de la ALA sintetasa, o (2) menor actividad de la uroporfirinógeno sintetasa. El resultado es aumento en la concentración de porfibilinógeno en la sangre, que puede ser detectado en la orina. El aumento de los pigmentos porfirínicos en la sangre causa dermatitis debido a su reacción con la luz solar. En humanos la enfermedad es rara y ha sido subdiagnosticada, situación que es más acentuada en animales.

Porfiria eritropoyética congénita

Es una enfermedad rara descrita en bovinos, porcinos y felinos. En humanos es conocida como enfermedad de Gunther. El defecto es hereditario, siendo autosómico recesivo en bovinos, y autosómico dominante en felinos, porcinos y humanos. En bovinos el trastorno fue descrito en las razas Shorthorn, Holstein y Ayrshire. Debido a que el factor es recesivo simple, los animales heterozigotos son normales.

Las señales clínicas en bovinos se caracterizan por la coloración marrón enrojecida de dientes, huesos y orina, exhibiendo marcada fluorescencia rosada cuando se irradian con luz ultravioleta. La exposición prolongada a la luz solar causa lesiones típicas de fotosensibilización, que se caracteriza por eritema agudo, edema y necrosis superficial en las regiones no pigmentadas de la piel. Las lesiones ocurren por la deposición de las porfirinas en los tejidos expuestos a radiación solar, ocurriendo formación de radicales libres en la célula, con ruptura de mitocondrias y lisosomas, degranulación de mastocitos cutáneos, degradación de la membrana fosfolipídica y de polipéptidos proteicos y ácidos nucleicos, generando inflamación en la piel. También ocurre anemia normocrómica con macrocitos y microcitos y punteado basófilo marcante, con eventual esplenomegalia y fragilidad ósea. El animal se vuelve progresivamente apático y muere. En general, los porcinos no presentan fotosensibilización, pero el trastorno puede ser reconocido por la coloración de los dientes. En los felinos el disturbio es observado en época de la erupción de los dientes primarios, cuando se presentan con pigmentación acastañada y fluorescencia rosada bajo luz ultravioleta. Después de la erupción de los dientes permanentes, esa pigmentación se vuelve menos visible. En gatos no se observan señales sistémicas. En otros animales se puede apreciar orina de color rosado, dientes marrón-rosados y anemia severa, además de las lesiones de fotosensibilización.

Las bases metabólicas de este trastorno se caracterizan por la deficiencia de la enzima uroporfinógeno III cosintetasa. En la ausencia de esta enzima se forman los isómeros uroporfinógeno I y coproporfinógeno I, los cuales no son convertidos a protoporfinógeno ni sintetizan la porción hemo de la hemoglobina. Esto se debe a la falta de la enzima coproporfirinógeno I oxidasa y a la alta especificidad de la coproporfirinógeno III oxidasa. El uroporfinógeno y el coproporfinógeno oxidados corresponden a la uroporfirina y coproporfirina acumuladas. Estas porfirinas se depositan en los tejidos y, cuando son expuestos a luz ultravioleta, la piel reacciona liberando calor y causando lesiones a los tejidos. Los eritrocitos con cantidad aumentada de porfirinas son más susceptibles a la destrucción, teniendo una vida media menor que los eritrocitos normales. Esa disminución de la vida media está relacionada a un proceso hemolítico que no está bien esclarecido.

El diagnóstico se realiza por las señales clínicas y las alteraciones en los exámenes de laboratorio. La orina de los bovinos acometidos puede contener 500 a 1.000 µg/dL de uroporfirinas y 356 a 1.530 µg/dL de coproporfirina. La orina de bovinos normales contiene de 0,80 a 1,60 de uroporfirinas y de 2,05 a 6,15 µg/dL de coproporfirinas. En la necropsia los huesos aparecen con coloración marrón o enrojecida. Los pigmentos porfirínicos se depositan en los huesos y dientes debido a poseer afinidad por los componentes minerales de esos tejidos. Además, las porfirinas se pueden depositar en otros órganos como pulmones, bazo y riñones.

La porfiria eritropoyética congénita en los bovinos se debe diferenciar de la protoporfiria eritropoyética (ver abajo), babesiosis, intoxicación por *Lantana* spp. y fotosensibilización causada por *Brachiaria* spp. En la babesiosis los animales presentan fiebre y demás señales de esta patología. Los casos de intoxicación por *Lantana* spp. ocurren en brotes y la planta es observada en la propiedad. Los casos de fotosensibilización por ingestión de *Brachiaria* spp. presentan apenas lesiones de piel y la presencia de la planta en los pastos. La fotosensibilización por *Brachiaria* spp es un problema provocado por la acumulación de clorofila en la piel asociada a la incidencia de rayos solares que se desarrolla cuando existen en conjunto lesiones hepáticas, generalmente causadas por el hongo *Pithomyces chartarum*, presente en esos pastos.

El tratamiento de las porfirias consiste en evitar la exposición al sol. De cualquier forma, los animales de producción que posean este disturbio deben ser eliminados de la reproducción. En humanos el tratamiento incluye hemotransfusiones y trasplantes alógenos de médula ósea. El tratamiento tópico con antisépticos y pomadas puede ser asociado.

Protoporfiria eritropoyética

Este desorden en el metabolismo de las porfirinas ocurre en bovinos (principalmente de la raza Limousine) y en humanos. Posee una herencia autosómica dominante en humanos y recesiva en bovinos, pudiendo estar ligada al sexo (ocurre apenas en hembras). El paciente portador de este disturbio presenta fotosensibilidad sin anemia, pigmentación dentaria u ósea ni porfirinuria. Hay un aumento de la protoporfirina fecal y en el eritrocito, debido a un defecto en la enzima ferroquetalasa (responsable por la incorporación de hierro a la protoporfirina IX).

El diagnóstico de esta porfiria es difícil porque la protoporfirina es insoluble y no es excretada en la orina. Solo es detectada cuando está en altas concentraciones en el plasma y los eritrocitos. Para auxiliar en el diagnóstico pueden ser realizadas mediciones de protoporfirina libre, biopsia de piel, análisis de porfirinas en la orina y las heces, hemograma completo, indicadores bioquímicos de función hepática, ecografía de hígado y vías biliares, radiografías y la eliminación de otras patologías que cursen con fotosensibilización. El tratamiento consiste en evitar la exposición a la luz solar y usar betacarotenos en cantidades suficientes para que la piel adquiera una coloración amarilla volviéndola más resistente a la radiación solar. En conjunto pueden utilizarse protectores solares y pomadas de óxido de zinc.

Porfirias hepáticas

El nombre de este trastorno es debido a que es el hígado el local predominante del defecto metabólico. Deficiencias de enzimas específicas han sido identificadas para todas las formas de porfirias hepáticas. Son más frecuentes en humanos que en animales. La porfiria hepática ha sido dividida en: (a) aguda intermitente (tipo sueco), con manifestaciones neurológicas (temblores) y desarreglos psíquicos en humanos; (b) mixta, que puede ser con manifestaciones cutáneas, con manifestaciones de la porfiria tipo sueco, o con la combinación de señales clínicas; (c) sintomática, que puede ser idiosincrásica, asociada con alcoholismo, enfermedades sistémicas o intoxicación con plomo; o adquirida, cuando es inducida con hexaclorobenzeno o causada por hepatomas.

Porfiria hepática por intoxicación con plomo

El plomo es un metal tóxico que existe en abundancia y es muy utilizado en la industria. La intoxicación con plomo (plumbismo, saturnismo) puede afectar todos los animales domésticos, siendo un problema clínico significativo principalmente en perros. El plomo está presente en pinturas viejas, en proyectiles, pesos de pesca, soldaduras y otros materiales. Con relación al metabolismo del hemo, dos enzimas son especialmente sensibles a intoxicación con plomo, la ALA-deshidrogenasa, más fuertemente inhibida, causando una acumulación de ALA, y la ferroquelatasa, que cuando es inhibida eleva el nivel de protoporfirina IX libre y queda comprometida la síntesis del grupo hemo. Las alteraciones causan una anemia sideroblástica. La enzima coproporfirinógeno oxidasa también puede estar inhibida, llevando al aumento de coproporfirina. En aves acuáticas el saturnismo es considerado, hoy, una de las enfermedades más importantes, debido a la alta tasa de mortalidad y a la dificultad de prevención y control.

Las principales señales clínicas están relacionadas con el sistema nervioso y gastrointestinal: pérdida de peso, diarrea y vómito. Los síntomas nerviosos se

manifiestan por parálisis de las extremidades inferiores, ataxia, en algunos casos convulsión, y los animales presentan debilidad general. Los síntomas neurológicos pueden variar de estados de convulsión epileptiformes a alteraciones comportamentales sutiles. Tanto el cerebro como los nervios periféricos pueden estar afectados. También se observa anemia hipocrómica. En aves es observada atrofia de los músculos pectorales, volviéndose presas fáciles por la dificultad en levantar el vuelo. Puede ser observada también insuficiencia renal, debilidad neuromuscular, ataques de apoplexia y coma. La confirmación del diagnóstico de plumbismo es por medición de los niveles de plomo en la sangre. Concentraciones de plomo de 0,35 ppm o mayores son indicativas de intoxicación y concentraciones de 0,60 ppm o más son consideradas diagnósticas. La medición de ALA urinaria y protoporfirina sanguínea también pueden ser indicativas. En el hemograma se observa anemia y eritrocitos nucleados en circulación, además de disminución de la hemoglobina. La presencia de eritrocitos nucleados en circulación y de basófilos punteados, en ausencia de anemia es característico de la exposición crónica a plomo. Sin embargo, puede también desarrollarse anemia microcítica hipocrómica. La radiografía es útil en los casos de ingestión de cuerpos extraños y materiales radiodensos. Pueden ser observadas líneas de plomo en las radiografías óseas, que son franjas escleróticas de 2 a 4 cm de espesura en la metáfisis de huesos largos de perros inmaduros.

El tratamiento consiste en la remoción del origen de la intoxicación y la utilización de fármacos quelantes de plomo, como EDTA cálcico y D-penicilamina. El EDTA al entrar en contacto con el plomo sustituye su ion calcio por el plomo, ocurriendo la formación de un complejo no tóxico que puede ser fácilmente eliminado. En casos de ingestión de cuerpos extraños conteniendo plomo, la remoción quirúrgica es indicada.

Ictericias

El nivel de bilirrubina es un índice del funcionamiento hepático. El aumento de bilirrubina en la sangre causa ictericia, coloración amarillenta de la piel y las mucosas debido a la deposición de pigmentos biliares. Existen tres tipos básicos de ictericias: hemolítica, hepática y obstructiva. La **Tabla 3.3** presenta un resumen sobre los niveles de bilirrubina en los diferentes tipos de ictericia.

Tabla 3.3 Alteraciones relativas en los niveles de bilirrubina en plasma y urobilinógeno en orina en los diferentes tipos de ictericia

Tipo de ictericia	Bilirrubina en plasma		Urobilinógeno en orina
	Libre	Conjugada	
Hemolítica	↑↑↑	↑	↑
Hepática	↑	↑	↑↑
Obstructiva	=	↑↑	-

Ictericia hemolítica (prehepática)

Ocurre por destrucción masiva intravascular de eritrocitos (anemia hemolítica), por ejemplo, en la anaplasmosis y en la babesiosis de los bovinos, o en la malaria de los humanos. En esos casos, la bilirrubina libre en exceso, ante la liberación masiva de hemoglobina, se acumula en la sangre, pues el hígado no puede procesarla con la misma velocidad con que se produce. La bilirrubina conjugada es excretada en el intestino y transformada en urobilinógeno, el cual, siendo reabsorbido por el propio intestino, tiene altos niveles en la sangre y, por tanto, también en la orina. Así, la ictericia hemolítica se caracteriza por tener altos niveles sanguíneos de bilirrubina libre, así como altos niveles de urobilinógeno en la sangre, en las heces y en la orina. Como la bilirrubina libre no puede ser excretada en la orina, se encuentra poca bilirrubina en la orina de los animales con este tipo de ictericia (**Figura 3.13**). En la crisis hemolítica puede ocurrir hemosiderosis (sobrecarga de pigmentos biliares en el hígado) y llevar a lesión hepática secundaria. En ese caso disminuye la excreción de urobilinógeno vía biliar, debido a la lesión hepatocelular, aumentando el nivel de urobilinógeno en la orina.

Varias causas pueden llevar a hemólisis: congénitas (porfirias, deficiencia de enzimas glicolíticas), virales (anemia infecciosa equina), bacterianas (leptospirosis, hemobartonelosis, eperitrozoonosis), riquetsias (anaplasmosis), protozoarios (babesiosis, citauxzoonosis, tripanosomiasis), inducidas por sustancias químicas (cebolla, propileno-glicol, aspirina, zinc, cobre), inmunomediadas (inmunocomplejos, isoeritrólisis neonatal). Como consecuencia de la hemólisis intravascular, hay un exceso de hemoglobina libre que se liga a la haptoglobina y es retirada por el sistema

fagocítico mononuclear. Cuando la hemoglobina supera los niveles de haptoglobina la primera se excreta por la orina (hemoglobinuria). La hemoglobina en exceso podrá inducir una nefrosis tubular tóxica. Como el mecanismo de secreción de bilirrubina es dependiente de energía, el consumo energético estará aumentado en los casos de hemólisis. Como la región centrolobular es la última porción del lóbulo hepático en recibir sangre, una reducción acentuada de oxígeno derivado de anemia y del consumo aumentado de energía puede inducir una lesión irreversible.

Ictericia hepática

Ocurre por lesión hepática (por ejemplo, en hepatitis, leptospirosis, intoxicación con tetracloruro de carbono). La bilirrubina libre, producida normalmente por el catabolismo de la hemoglobina, se acumula en la sangre debido a que el hígado lesionado no la procesa con rapidez. Por otro lado, los hepatocitos inflamados causan obstrucción de los canalículos biliares, impidiendo que la bilirrubina que está siendo conjugada consiga salir por la bilis, obligándola a extravasar en la circulación y generando, por tanto, aumento anormal de la bilirrubina conjugada en la sangre. La poca bilirrubina conjugada que consigue salir por la bilis es procesada a urobilinógeno en el intestino, el cual es inmediatamente reabsorbido. Sin embargo, este urobilinógeno no puede ser excretado por la bilis debido a la lesión hepática, y debe, por tanto, excretarse por la orina. Así, en la ictericia hepática se encuentra aumento de los niveles sanguíneos de bilirrubina total (conjugada y libre), así como aumento de los niveles de urobilinógeno y de bilirrubina en la orina (**Figura 3.14**).

La ictericia es la anormalidad específica más frecuente en perros y gatos con enfermedad hepática (20% de los perros y 30%-40% de los gatos). En los casos de enfermedad hepática difusa grave ocurre una combinación de factores para que haya hiperbilirrubinemia, tales como producción aumentada, depuración reducida, problemas en la conjugación por el hígado y colestasis. La hemólisis en el hepatopata es causada por la disminución de la vida media de los eritrocitos (en el perro la vida media cae de 60-80 días a 20-40 días). En este tipo de ictericia las mucosas aparecen normales o levemente pálidas. En la mayoría de los casos de enfermedades hepáticas con ictericia hay aumento de bilirrubina no conjugada, aunque menos que en los casos de hemólisis, y de bilirrubina conjugada, teniendo también mayor eliminación de urobilinógeno por la orina debido a la lesión hepática.

Ictericia obstructiva (poshepática)

Ocurre por obstrucción de los ductos biliares, por ejemplo en los procesos inflamatorios causados en los canalículos biliares por la *Fasciola hepatica* en rumiantes. También en casos de tumores, cálculos biliares y pancreatitis extensiva. En esos casos la bilirrubina conjugada producida normalmente no consigue salir por la bilis y se acumula en la sangre. De esa forma, no se produce urobilinógeno (las heces son pálidas) y se encuentra aumento de bilirrubina conjugada tanto en la sangre como en la orina. Este tipo de ictericia es el que produce los más altos niveles de bilirrubina conjugada en el plasma y en la orina (**Figura 3.15**).

Se observa una distensión de ductos biliares próximos a la obstrucción seguida de distensión progresiva en sentido retrógrado a los ductos intrahepáticos. Con la cronicidad de la obstrucción ocurre extensa fibrosis hepática (fibrosis biliar) y puede ocurrir también ruptura de los canalículos y extravasamiento de bilis causando áreas focales de necrosis hepatocelular. En el perro la obstrucción del ducto común no siempre lleva a ictericia, pues existen normalmente ductos supranumerarios. En los gatos pueden encontrarse problemas hepáticos y pancreáticos simultáneos cuando hay obstrucción en la salida para el intestino, ya que los ductos colédoco y pancreático se unen antes de desembocar en el intestino. Esas dos anormalidades asociadas con alteraciones intestinales forman el cuadro denominado triaditis.

Intoxicaciones que comprometen la función del grupo hemo

Intoxicación por monóxido de carbono

El monóxido de carbono (CO) resulta de la combustión incompleta (o sea, cuando no hay suficiente oxígeno para la combustión) de los compuestos orgánicos, especialmente de los combustibles hidrocarbonados, como por ejemplo en los motores de combustión interna. El CO es menos pesado que el aire y tiende por tanto a ir hacia arriba. Se considera que los niveles de CO en el aire limpio son de 0,02 ppm. En las calles de las grandes ciudades el nivel llega a 13 ppm y en las calles más polucionadas puede alcanzar los 40 ppm.

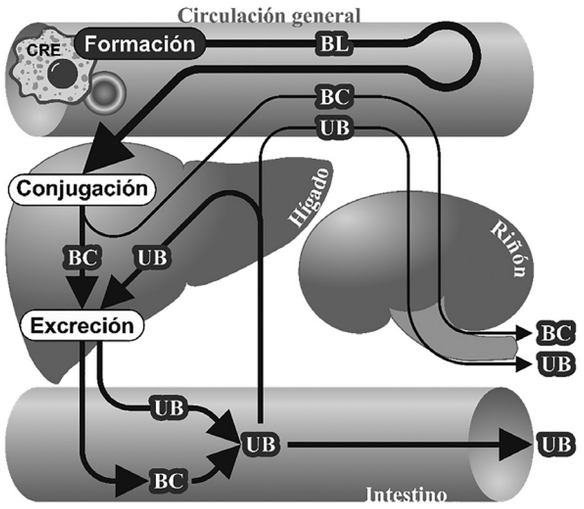


Figura 3.13. Circulación enterohepática de pigmentos biliares en la ictericia prehepática

La causa primaria de este tipo de ictericia es la excesiva formación y liberación de bilirrubina libre en circulación. El espesor de las líneas tiene relación con la concentración de los metabolitos. Comparar con la circulación enterohepática fisiológica de pigmentos biliares (Figura 3.9). CRE, célula retículo-endotelial; BL, bilirrubina libre; BC, bilirrubina conjugada; UB, urobilinógeno.

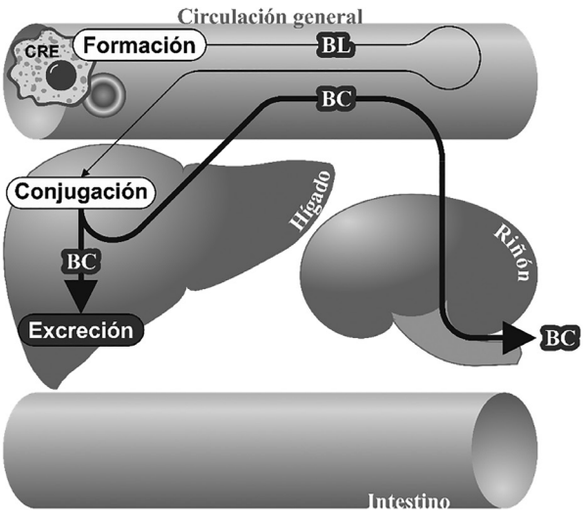


Figura 3.15. Circulación enterohepática de pigmentos biliares en la ictericia obstructiva

La causa primaria de este tipo de ictericia, también llamada obstructiva, es la dificultad en la excreción de la bilirrubina conjugada. El espesor de las líneas tiene relación con la concentración de los metabolitos. Comparar con la circulación entero-hepática fisiológica de pigmentos biliares (Figura 3.9). CRE, célula retículo-endotelial; BL, bilirrubina libre; BC, bilirrubina conjugada.

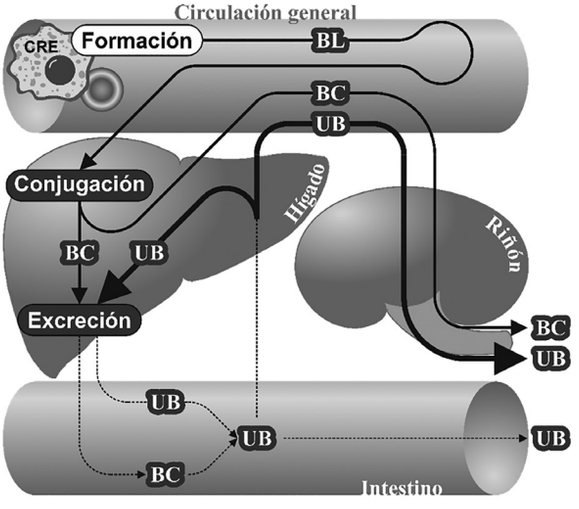


Figura 3.14. Circulación enterohepática de pigmentos biliares en la ictericia hepática

La causa primaria de este tipo de ictericia es la insuficiente formación de bilirrubina conjugada y su posterior excreción. También, el urobilinógeno que es reabsorbido del intestino y llega al hígado es progresivamente acumulado en los hepatocitos, extravasando para la circulación. El espesor de las líneas tiene relación con la concentración de los metabolitos. Comparar con la circulación entero-hepática fisiológica de pigmentos biliares (Figura 3.9). CRE, célula retículo-endotelial; BL, bilirrubina libre; BC, bilirrubina conjugada; UB, urobilinógeno.

El metabolismo animal produce pocas cantidades de CO a partir del catabolismo de la fracción hemo (1 mol de CO/mol de hemo). La producción endógena de CO lleva a la formación de carboxihemoglobina (COHb), la cual puede estar en la sangre en concentraciones de 0,5%-3%. Cuando el nivel de COHb alcanza 12% se inhiben los sistemas oxidasa de degradación del hemo que llevan a la formación de CO. Con niveles de hasta 3% de COHb en la sangre no se observan efectos clínicos. Con 6%-8% de COHb hay cierto mareo, y con 20% hay incoordinación motora. Con 20%-40% ocurre letargo, disnea, coma, y la muerte ocurre con niveles de 60%-70% de COHb en la sangre. El CO compite con el oxígeno por la unión a las proteínas con grupos hemo: hemoglobina, mioglobina, citocromo, catalasa, peroxidasa. La afinidad del CO es doscientas veces mayor que la del O_2 por la Hb, entre treinta y cincuenta veces mayor por la Mb, y es menor en los citocromos. El resultado es que el O_2 es impedido de ser transportado para los tejidos, causando hipoxia tisular. Por otra parte, la curva de disociación de la Hb se desplaza a la izquierda cuando la COHb llega a 10% en la sangre, o sea, la liberación de O_2 de la Hb a

los tejidos se ve disminuida, lo que puede ser resultado de que el O_2 ligado se une más fuertemente a la Hb cuando existen otros sitios de la Hb con CO. La P_{50} (presión de O_2 asociada con 50 % de saturación de la Hb) cae en la sangre de 26,5 a 21 mmHg. El resultado es que el CO causa disminución de la entrega de O_2 a los tejidos. Además, los sitios de Fe^{2+} aun libres de la Hb adquieren más difícil reacción con el O_2 cuando la Hb tiene otros sitios unidos a CO.

La hipoxia tisular causada por el CO puede causar necrosis en las fibras cardiacas (afectando el ECG) y en las células del cerebro (afectando el comportamiento neurológico). La acidosis metabólica causada por el CO es compensada con hiperventilación, causando alcalosis respiratoria. La sangre se vuelve de color rojo brillante debido al aumento de O_2 que no puede entrar en las células (diferenciar de intoxicación por cianuro). Entre las diferentes especies, las aves y en particular los canarios son las más susceptibles a la intoxicación con CO. El perro es más sensible que el humano al CO. El animal afectado debe ser tratado inmediatamente con oxigenoterapia de preferencia con mezcla de CO_2, para desplazar el CO (mezcla recomendable de 94 % de O_2 y 4 % de CO_2).

Intoxicación por nitritos

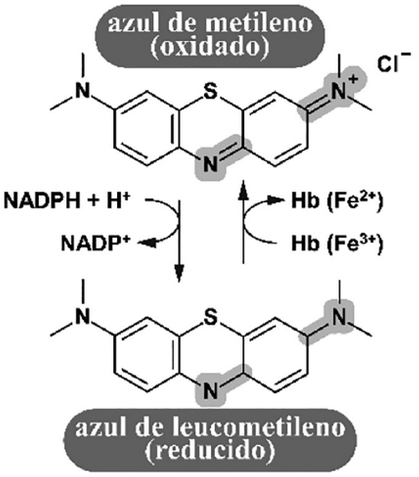
El ion nitrato (NO_3^-) es un componente del metabolismo de las plantas. El N atmosférico fijado por las bacterias en forma de amoniaco (NH_3) es convertido en nitrato y captado por las plantas, las cuales lo utilizan para la síntesis de proteínas. Los desechos nitrogenados animales (urea y amoniaco) son convertidos en nitrito (NO_2^-) que puede ser absorbido y utilizado por las plantas. Tanto los nitratos como los nitritos son solubles en agua de forma que, en el suelo, son lixiviados, pudiendo aparecer en reservatorios de agua. Como fuentes importantes de contaminación de nitratos y nitritos están la materia orgánica en descomposición, fertilizantes nitrogenados (especialmente nitratos de sodio, de amonio y de calcio), desechos animales y residuos de ensilaje. En las plantas los nitratos se pueden acumular bajo algunas condiciones: (a) suelos con altos niveles de nitratos o amoniaco; (b) suelos húmedos y ácidos o con deficiencia de Mo, S o P; (c) suelos muy aireados; (d) condiciones de seca o de frío (menor que 12 ºC); (e) tratamiento con herbicidas. El nitrato se acumula más en el tallo de las plantas y menos en las hojas.

La intoxicación aguda por nitratos ocurre cuando las plantas contienen más de 1 % de nitrato o cuando el agua contiene 1.500 ppm. La tolerancia a los nitratos en rumiantes aumenta con dietas de buena calidad o con bastantes carbohidratos solubles disponibles porque se acelera el proceso normal de reducción de los nitratos hasta amoniaco:

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow NH_2OH \rightarrow NH_3$$

Los animales monogástricos son, en general, más tolerantes al nitrato, ya que no poseen mecanismos para reducirlo de forma rápida a nitrito, primer compuesto producido en la reducción y mucho más tóxico, como es el caso de los rumiantes. Sin embargo, son más susceptibles a los nitritos que a los nitratos comparados con los rumiantes (diez a tres). El ion nitrato como tal no es tóxico, pero puede ser reducido en el tracto gastrointestinal de los animales rumiantes y herbívoros a ion nitrito, el cual es altamente tóxico y de fácil absorción. El ion nitrito oxida el hierro Fe^{2+} de la Hb a Fe^{3+} formando metahemoglobina (MetHb), la cual no puede aceptar el O_2, resultando en anoxia tisular. En la intoxicación aguda por nitratos las señales clínicas aparecen de una a cuatro horas después de la ingestión, siendo evidentes cuando los niveles de MetHb alcanzan 30 %-40 % del total de Hb, y la muerte ocurre con niveles de 80 %-90 % de MetHb. La proporción normal de MetHb con relación a la Hb varía de 0,6 % a 1,4 % (menor en el cerdo, intermedio en las vacas y mayor en el caballo). Entre las señales más comunes están salivación, vómito, diarrea, dolor abdominal y poliuria. La anoxia lleva a disnea, ataxia y poca resistencia al ejercicio, temblores, debilidad, convulsiones, mucosas cianóticas y pulso débil y rápido. La sangre aparece oscura (color chocolate) debido a la poca oxigenación. La formación de MetHb por la acción de los nitritos se puede considerar como una acción secundaria. La acción primaria de los nitritos es sobre el SNC y los vasos sanguíneos (pulso rápido y baja presión arterial). Los rumiantes son menos sensibles a ese efecto primario que los caballos, pero más susceptibles al efecto de la MetHb.

El tratamiento está dirigido para retornar el hierro de la Hb a su estado reducido. Se utiliza azul de metileno, el cual actúa en la sangre como agente reductor después de convertirse en azul de leucometileno:



Empero, hay que tener precaución con dosis excesivas de azul de metileno, pues puede revertir el proceso y aumentar la metahemoglobinemia. Se sugiere una dosis de 4 mg/kg de peso, administrada intravenosamente de una solución de azul de metileno 2%-4%. La administración de aceite mineral con sonda vía ruminal alivia la acción cáustica de los nitritos formados y facilita su eliminación. El uso de catárticos salinos y antibióticos, así como agua helada (12-20 L), ayudan a disminuir la acción reductora de las bacterias (por tanto la producción de nitritos) y mejoran la eliminación de nitrato. En caballos el efecto primario de los nitritos sobre el SNC y el sistema vascular se puede tratar con adrenalina. El nitrato también puede actuar como compuesto antitiroidiano, pues interfiere con la captación de yodo por la tiroides. En vacas se puede presentar intoxicación crónica por nitratos, lo que resulta en disminución de la producción de leche y señales similares a la deficiencia de vitamina A.

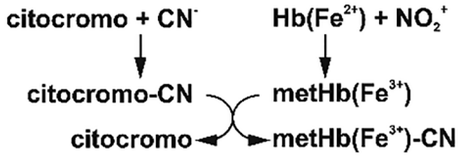
Intoxicación por cianuro

Los cianuros, designación genérica de las sales del ácido cianhídrico (HCN), son tóxicos de acción rápida. Pueden ser encontrados en algunas plantas, en productos de limpieza de metales, en venenos para roedores y en fertilizantes nitrogenados (e. g. cianamida de calcio). Muchas plantas acumulan glicósidos cianogénicos que pueden hidrolizarse y liberar HCN, entre otros, sorgo, pasto sudán, maíz, trébol blanco, hojas de durazno. Normalmente la hidrólisis es inhibida en la planta porque existe separación compartimental entre la enzima (glicosidasa) y los glicósidos. Sin embargo, la hidrólisis puede ocurrir por congelamiento, marchitamiento o por falta de desarrollo. También puede ocurrir cuando las plantas son maceradas en el intestino. Los sorgos modernos han sido seleccionados genéticamente para tener bajo potencial cianogénico. La mayoría de la actividad cianogénica de las plantas está en las hojas y en las semillas. Las plantas de la familia Cruciferae, principalmente del género *Brassica* spp. (mostaza, brócolis, repollo, etc.), así como la soya y la linaza pueden contener tiocianuros, sustancias que inhiben la producción de hormonas tiroidianas, resultando en hipotiroidismo y, eventualmente, bocio.

Los animales toleran pocas cantidades de cianuros. El ion cianuro (CN^-) reacciona con el Fe^{3+} de la citocromo oxidasa formando un complejo estable. La cadena de transporte de electrones es bloqueada y la respiración celular se detiene, causando anoxia citotóxica (O_2 no puede ser utilizado). Como resultado, la Hb no puede liberar más O_2 para que entre al sistema de transporte electrónico de las células, pues el tejido está con alta presión de O_2. La sangre aparece con color rojo brillante por estar altamente oxigenada. El CN^- actúa más rápidamente en tejidos donde la citocromo oxidasa está más concentrada (SNC y corazón). Ocurre una rápida depresión de la actividad cerebral, aunque el centro respiratorio demora en ser afectado. La intoxicación es rápida y las señales clínicas aparecen en pocos minutos después de la ingestión. Inicialmente hay hiperexcitabilidad y temblores musculares, polipnea seguida de disnea, salivación, lagrimeo, evacuación de heces y orina y, finalmente, convulsiones debidas a la anoxia y muerte. Alrededor de cuarenta enzimas pueden ser inhibidas por el CN, pero la citocromo oxidasa es la más sensible (50% de inhibición reversible con 0,01 mM de CN) y es la que tiene mayor repercusión metabólica. Generalmente las intoxicaciones por cianuro en veterinaria son agudas. Niveles de cianuro de más de 200 ppm en plantas pueden causar intoxicación. Sin embargo, la toxicidad depende de: (a) tamaño del animal, (b) velocidad de la ingestión, (c) alimento que fue ingerido con el cianogénico y (d) capacidad de detoxificación.

El tratamiento debe conducir a la quiebra de la unión entre el CN^- y el Fe^{3+} de la citocromo oxidasa, lo

que puede ser hecho con nitrito de sodio para provocar la formación de metahemoglobina (MetHb), la cual compite con la citocromo oxidasa por el ion CN^- para formar cianometaHb. La MetHb tiene mayor afinidad por el CN^- que la citocromo oxidasa:



En ese tratamiento se debe adicionar tiosulfato, el cual reacciona con el CN (con la enzima rodanasa) para formar tiocianuro, que es excretado por la orina. La dosis recomendada es una mezcla de 1 mL de nitrito de Na 20 % + 3 mL de tiosulfato de Na 20 %, aplicando intravenosamente 4 mL de la mezcla por cada 45 kg de peso.

Intoxicación por urea (amonio)

La urea es originaria del catabolismo de aminoácidos, ácidos nucleicos y amonio de origen endógeno o exógeno (proveniente de la dieta). Mientras más rica en proteína sea la dieta, mayor será la cantidad de urea plasmática. En casos de carencia de proteína el organismo reacciona reduciendo las pérdidas orgánicas de nitrógeno. La principal vía de excreción de nitrógeno es por la orina, mediante la eliminación de urea. Los rumiantes, además de la excreción urinaria, reciclan la urea por medio de la saliva que llega al rumen para ofrecer fuente nitrogenada a los microorganismos ruminales. Los riñones tienen gran capacidad de excretar urea, siendo filtrada de la sangre por el glomérulo renal, reabsorbida y excretada en los varios segmentos de los túbulos renales, que resulta en una gran concentración de urea por volumen de orina con relación a su concentración en la sangre. La cantidad de urea en la orina puede ser centenas de veces superior a la de la urea plasmática.

Los rumiantes, en el transcurso de la evolución, se alimentaron con dietas relativamente pobres en proteína, comparado con los monogástricos. Esto hizo que desarrollaran mecanismos compensatorios para economizar el nitrógeno eliminado por la orina, mediante una intensa reabsorción de urea en los ductos colectores, lo que resulta en una tasa de excreción urinaria de urea muy baja cuando reciben dietas bajas en proteína. Por otro lado, semejante a lo que ocurre con los monogástricos, en el caso en que los rumiantes sean alimentados con crecientes cantidades de proteína en la dieta, mayor será la excreción de urea en la orina. Comparando períodos de carencia y de abundancia de nitrógeno en la dieta, la concentración de urea urinaria puede aumentar cerca de 25 veces comparada con un incremento de apenas 9,7 veces en el plasma, lo que indica la sensibilidad y el potencial diagnóstico del análisis de urea en la orina, el plasma o la leche. Empero, en rumiantes con carencia de proteína mantenidos en ayuno o con anorexia ocurre un mayor catabolismo de aminoácidos, aumentando la cantidad de urea sérica y urinaria, que dificulta la interpretación.

Etiología

La intoxicación con urea es muy común en rebaños de bovinos, en los cuales este compuesto es usado como fuente de nitrógeno no proteico (NNP) en suplementación alimentaria. Dicha intoxicación se presenta principalmente de forma aguda, siendo causada cuando los animales reciben grandes cantidades de urea o sales de amonio sin permitir una adaptación adecuada para aprovechar esas fuentes de nitrógeno o cuando son sobrepasados los límites para su utilización. El problema se ve favorecido cuando no se suministran suficientes fuentes de glúcidos de fácil digestión. Es frecuente que se presente como accidente por inadecuada mezcla de los alimentos o cuando se usan fertilizantes que queden de fácil acceso a los animales. Una vaca puede morir en poco tiempo al consumir de 100 a 200 g de urea cuando no está adaptada.

En los rumiantes el nitrógeno de la urea es liberado en el rumen en forma de amonio, pudiendo ser usado por la microflora ruminal para la síntesis de proteína, la cual puede estar disponible para el animal por los procesos normales de digestión y absorción. Sin embargo, si es consumida una cantidad de urea más allá de la que los organismos del rumen pueden metabolizar, el amonio es absorbido a partir del rumen entrando en la circulación sanguínea. Ese amonio es convertido en urea en el hígado (ciclo de la urea) para después ser excretado por el riñón, ruta que puede ser rápidamente sobrecargada y ocurrir exceso de amonio y de urea en la sangre, caracterizando una intoxicación. El amonio en exceso alcaliniza el plasma y causa bloqueo del ciclo de Krebs por agotar la cantidad de α-cetoglutarato (metabolito intermediario del ciclo)

al formar ácido glutámico, en el intento de eliminar el amonio de la circulación.

Signos clínicos de la intoxicación por urea

En la intoxicación por urea ocurre acumulación de NH_3 y de CO_2 en el rumen como productos de la hidrólisis de la urea por parte de las bacterias ruminales. El exceso de NH_3 alcaliniza el medio ruminal y ambos gases son absorbidos a través de la mucosa, causando una intoxicación sistémica. Los animales presentan señales clínicas que se manifiestan entre treinta y sesenta minutos después del consumo de la urea y se caracterizan por temblores musculares, salivación, respiración acelerada, atonía ruminal (timpanismo), apatía, ataxia y sudoración. En casos complicados también hay disnea marcada, postración y extensión de las extremidades, la frecuencia cardíaca está aumentada (100-160 lat/min), hay regurgitación y muerte entre 45-120 min después de la ingestión. Otros signos pueden incluir contracción de las orejas y de los músculos faciales, rechinar de dientes, dolor abdominal, micción frecuente, andar tambaleante, espasmos violentos y gemidos. Con frecuencia los animales son encontrados muertos próximos a la fuente de urea.

Diagnóstico de la intoxicación por urea

Los mejores indicadores diagnósticos son la historia de acceso a la urea y las señales clínicas de los animales afectados. Pruebas de laboratorio en muestras de sangre no son muy útiles, y pocas alteraciones *post mortem* son observadas. El manejo alimentario reciente es muy importante. Los bovinos pueden acostumbrarse a metabolizar la urea, pero si no hay un período de algunos días de adaptación o si consumen más de lo recomendado, la intoxicación puede ocurrir. En el laboratorio los niveles de amoniaco sanguíneo pueden ser medidos, aunque son útiles apenas en animales vivos. Las proteínas plasmáticas se degradan rápidamente en el animal muerto y producen amoníaco, de forma que medir este metabolito en el animal muerto carece de valor. El amoníaco (NH_3) se excreta en pequeñas cantidades en la orina, en la forma de amonio (NH_4^+), siendo secretado, en gran parte, en el túbulo contorsionado proximal y parcialmente reabsorbido en la asa de Henle. Valores normales de amonio urinario en bovinos varían de 50 a 800 μM. Los niveles de amoniaco en el fluido ruminal también pueden ser medidos, pero las muestras deben obtenerse recién ocurrida la muerte y ser congeladas hasta su medición.

Los animales se descomponen rápidamente después de la muerte por intoxicación con urea y no se encuentran señales específicas de envenenamiento. A la necropsia puede ser visto timpanismo, congestión generalizada de la carcaza, exceso de fluido en el saco pericárdico, edema pulmonar y exceso de espuma en las vías aéreas superiores, así como hemorragias en el corazón. Hay un fuerte olor a amoníaco cuando se abre el rumen. Medir el pH del contenido ruminal fresco puede ser útil en campo. Un pH alcalino (pH mayor que 7,5) sugiere intoxicación con urea.

En la intoxicación por amonio, proveniente de alta ingestión de urea dietética, se descubrió recientemente que cuando un bovino orina con más frecuencia, es más resistente a esta intoxicación, pues más iones amonio son eliminados en este fluido (Ortolani *et al*., 2002). Estos autores detectaron en bovinos intoxicados, en el episodio convulsivo, una gran elevación de los niveles urinarios de amonio, variando de 3.000 a 25.000 μM. Como el amoniaco se puede volatilizar en la muestra, y la urea presente en esta se puede convertir en amoniaco, se recomienda que la orina sea congelada o se adicionen algunas gotas de un ácido fuerte (clorhídrico o sulfúrico) en la muestra hasta la determinación laboratorial. El amonio puede ser determinado en la orina por medio de kit diagnóstico o por electrodo ion específico.

Tratamiento de la intoxicación por urea

Una sonda ruminal puede ser pasada para aliviar el timpanismo y colocar volúmenes grandes de agua helada (45 L para un adulto), seguidos por varios litros de ácido acético 6% (vinagre). Esto diluye el contenido ruminal, reduce la temperatura del rumen y aumenta la acidez, lo que ayuda a disminuir la producción de amoniaco. El tratamiento debe ser repetido en veinticuatro horas. Rumenotomía y remoción del contenido ruminal con aplicación de líquido ruminal de una vaca sana puede ser útil en algunos animales. Pueden ser aplicados por vía endovenosa 300 mL de ácido acético 1%, 500 mL de glucosa 20% y sales de Ca y Mg. La prevención de la intoxicación por urea cuando se usa nitrógeno no proteico (NNP) en la alimentación debe incluir:

— Inicio gradual de la suplementación con urea aumentando poco a poco hasta alcanzar 0,1 g/kg peso vivo (35-40 g para una vaca de 400 kg).

— Asegurar que los animales consuman regularmente (todos los días) la suplementación, después de haberla iniciado.
— Si hay interrupción de la suplementación con urea por dos días, recomenzar con el menor nivel de consumo.
— Prevenir el exceso de consumo de mezclas o bloques de suplementación mediante el uso de sal para regular el consumo.
— Tomar las precauciones debidas cuando se usa urea como fertilizante.
— Proteger los suplementos de la lluvia para prevenir la disolución de la urea y mezclar perfectamente los alimentos.
— Tener siempre reservas de vinagre a disposición.

Suplementando con urea

Es práctico aprovechar la ventaja que tienen los rumiantes de utilizar la urea como fuente de nitrógeno para formar proteína en el rumen. Sin embargo, algunos cuidados deben ser tomados en cuenta para que no ocurra la intoxicación. La urea es muy soluble y se disuelve rápidamente en charcos, que pueden formar bloques después de llover; los animales pueden lamer esos bloques y consumir urea en exceso. La cantidad recomendada de urea varía de acuerdo al alimento ofrecido y el tiempo de adaptación a la urea. La tolerancia disminuye con ayuno y con dieta baja en proteína y alta en fibra. Cerca de 35 g de urea/día se considera suficiente para una vaca de 400 kg (aproximadamente 0,1 g/kg peso vivo). Se recomienda que la urea no suministre más de 3 % del concentrado, o más de 1 % del consumo total, y que no más de un tercio del total de consumo de nitrógeno sea de NNP. En ganado bovino 0,3-0,5 g/kg (120-200 g para una vaca de 400 kg) es considerado tóxico, y 1,0-1,5 g/kg (400-600 g para una vaca de 400 kg) puede ser fatal.

3.6 Proteínas séricas: cuantificación e interpretación de sus alteraciones

La determinación de proteínas totales, albúmina y globulinas en suero o en plasma sanguíneos se incluye de forma rutinera dentro de un perfil básico para análisis de proteínas. Esos análisis son simples de hacer y ofrecen una información clínica muy valiosa que puede ayudar en el diagnóstico de varios trastornos. Las principales alteraciones posibles de ser encontradas en las proteínas sanguíneas comprenden hiperproteinemias, hipoproteinemias por disminución de albúmina, e hipoproteinemias por disminución de globulinas. Adicionalmente, se estudia la electroforesis de proteínas a fin de obtener información complementaria sobre las alteraciones de las diferentes fracciones proteicas.

Proteínas totales

Para la determinación de las proteínas totales pueden ser utilizados dos tipos de análisis: físico (refractometría) o químico (colorimetría).

Refractometría

Está basada en el principio de que, a altas concentraciones de sólidos disueltos (mayor que 3 g/dL), el índice de refracción de una solución aumenta linear y proporcionalmente a la concentración del soluto. Como la mayoría de los sólidos disueltos en el plasma son proteínas se asume que el índice de refracción del plasma estimará su concentración proteica. La refractometría es usada con frecuencia debido a su rapidez, economía (no requiere reactivos) y facilidad de realización, habiendo buena correlación entre este método y los métodos colorimétricos. Sin embargo, es necesario seguir algunas recomendaciones:

— Utilizar suero claro, con mínima turbidez posible, pues por ser un método que depende de la transmisión de la luz hay interferencia con hemólisis o lipemia.
— Calibrar con agua destilada frecuentemente.
— Hacer la lectura en un lugar iluminado.
— Considerar que, en concentraciones de proteína menores de 20 g/L o por encima de 100 g/L, aumenta la imprecisión del método.

Este método asume que otros solutos están en concentraciones normales. Si hay altas concentraciones de otros solutos (urea, glucosa, colesterol, sodio o sustancias como dextrano que pueden ser perfundidas en grandes cantidades cuando hay hipoproteinemia) aumentarán de forma ficticia los valores de proteínas obtenidos en el refractómetro. Así, fue comprobado que niveles de urea en el plasma por encima de 112 mg/dL pueden incrementar los valores de proteínas plasmáticas en 0,6 g/L.

Colorimetría

Las proteínas totales pueden ser determinadas por colorimetría utilizando los sistemas que usan reactivos sobre un soporte sólido en forma de placas o tiras reactivas (química seca) o mediante reactivos en forma líquida (química húmeda). El método de Biuret es el más utilizado actualmente para la determinación de proteínas totales en suero. La reacción se basa en la formación en medio alcalino de un compuesto coloreado (azul), debido a la unión de las proteínas a sales de cobre (reactivo de Biuret).

La albúmina puede ser determinada por colorimetría utilizando sistemas de química seca o húmeda. Normalmente, para determinar la albúmina por colorimetría se usa la técnica del verde de bromocresol. En pH ácido el verde de bromocresol se fija de forma selectiva sobre la albúmina y produce un color azul. El método es bastante confiable dentro de los intervalos normales para animales; sin embargo, su exactitud parece disminuir en casos de muestras hipoalbuminémicas. Adicionalmente, pueden ocurrir los siguientes problemas:

— Falsa disminución de albúmina con altos niveles de bilirrubina o presencia de fármacos, como aspirina y anticonvulsivantes, que compiten con la albúmina por el bromocresol.
— Variabilidad entre especies, con falsa disminución en perros y gatos y falsos aumentos en vacas y caballos, causados por la diferente afinidad de la albúmina al bromocresol, según la especie. Para evitar ese problema se recomienda usar calibradores propios de la especie.

Con relación a las globulinas, los métodos colorimétricos existentes para su determinación son poco precisos y exactos, de forma que sus valores son obtenidos en la práctica por sustracción del valor de las proteínas totales menos la albúmina.

Valores de referencia y variaciones fisiológicas

Aunque siempre es recomendado que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la metodología utilizada, pueden ser considerados los valores para las diferentes especies contemplados en la **Tabla 3.4**, los cuales están influenciados por las siguientes variaciones fisiológicas;. En general, los valores de proteína total en el plasma tienen en torno de 5 % más que los del suero, por causa del fibrinógeno.

- Edad: los animales neonatos presentan niveles bajos de proteínas plasmáticas debido a que poseen pequeñas cantidades de inmunoglobulinas de albúmina. En la medida en que el animal ingiere calostro, aumentan los niveles de globulinas progresivamente hasta la madurez. Así, en animales de menos de 6 meses, los valores se sitúan en el menor intervalo de la referencia. De cualquier forma, con excepción de los primeros días de vida, las diferencias nunca son de tal magnitud que puedan ser confundidas con problemas clínicos.

- Gestación y lactación: durante la gestación, la concentración de proteínas plasmáticas disminuye debido a una baja en la cantidad de albúmina, a pesar del pequeño aumento de las globulinas. Empero, al término de la gestación ocurre un marcado aumento de las gamaglobulinas, que lleva a incremento del total de proteínas. En la lactación vuelve a ocurrir la disminución de proteínas causada por la mengua de albúmina, principalmente en la lactancia temprana.

- Hormonas: la testosterona, los estrógenos y la hormona del crecimiento pueden causar incremento en la concentración de proteínas por sus efectos anabólicos. El cortisol y la tiroxina causan lo contrario por sus efectos catabólicos.

Hiperproteinemias

Los aumentos de proteínas totales en la clínica veterinaria pueden ser producidos por incrementos de albúmina y/o de globulinas. Esos aumentos son causados por dos motivos principales: deshidratación e inflamación.

Deshidratación

Viene acompañada de aumento de albúmina y globulinas. Los niveles de proteínas están aumentados por hemoconcentración al disminuir el volumen plasmático. Esa deshidratación debe ser confirmada mediante examen físico del animal y producir otras alteraciones analíticas, como aumento del hematocrito. En esos casos los niveles de albúmina están elevados de forma relativa, pues el aumento verdadero de albúmina no ha sido descrito. Ese aumento relativo también se produce en las globulinas.

Tabla 3.4 Valores de referencia de proteínas totales, albúmina y globulinas (g/L) en el suero de algunas especies animales

Fracción proteica	Especie			
	Caninos	Felinos	Equinos	Bovinos
Proteína total	54-75	60-79	56-76	67-75
Albúmina	23-31	28-39	26-41	25-38
Globulinas	27-44	26-51	26-40	30-35

Inflamación

Viene acompañada de baja de albúmina y aumento de globulinas. En esos casos, mayores detalles sobre el tipo y la causa de la inflamación son obtenidos por medio de proteinograma, que permite estudiar las diferentes fracciones de globulinas de forma individual. En general, aumento de globulinas por problemas inflamatorios acompañan baja concomitante en la concentración de albúmina y se encuadra en la respuesta de fase aguda.

Hipoproteinemia por disminución de albúmina

Incluye procesos donde están disminuidas las proteínas totales que cursan con baja albúmina, siendo esta la fracción que más se afecta. Las globulinas tienen una respuesta variable, pues pueden estar también disminuidas (casos de hemorragia, mala absorción, insuficiencia cardiaca), normales o aumentadas (caso de una inflamación concomitante). Las causas de disminución de albúmina pueden ser agrupadas en tres procesos: síntesis o absorción, pérdidas y dilución.

Problemas de síntesis o absorción de albúmina

- Insuficiencia hepática: la disminución de albúmina en esos casos puede ser de moderada a severa, dependiendo del grado de alteración de la función hepática. No ocurre hipoalbuminemia hasta que la masa funcional hepática disminuya en 70%-80%, implicando cronicidad del proceso causador. Las pruebas de funcionalidad hepática estarán alteradas en esos casos.

- Falla de absorción intestinal: incluye problemas de (a) mala digestión por insuficiencia pancreática, en que la baja de albúmina es moderada y apenas en casos sin tratamiento por tiempo prolongado; los animales afectados presentan pérdida de peso severa, diarrea de intestino delgado y esteatorrea; y (b) mala absorción (enteropatía con pérdida de proteínas). En general, hay sospecha de esas alteraciones cuando ocurren bajas moderadas a severas de albúmina, con o sin diarrea, y se descartan otras causas de baja de albúmina. En el diagnóstico de enteropatía con pérdida de proteínas se recomienda realizar examen endoscópico y análisis de biopsia intestinal.

- Mala nutrición proteica: puede ocurrir baja en la albúmina en situaciones bastante prolongadas y graves, pues existe un mecanismo de compensación que consiste en el paso de albúmina del espacio extravascular (tejidos) al intravascular. Así, generalmente se observa una considerable pérdida de proteínas tisulares con cambios menores de las proteínas plasmáticas.

Pérdidas excesivas de albúmina

- Síndrome nefrótico: producido por alteraciones de los glomérulos renales (amiloidosis renal o glomerulonefritis). En ese caso la principal proteína perdida es la albúmina porque su molécula es de menor tamaño, aunque en casos de daño glomerular grave también se pierden globulinas. La hipoalbuminemia puede ser severa, acompañada de proteinuria.

- Hemorragias y lesiones exudativas por quemaduras o traumatismos: en estos casos disminuyen la albúmina y las globulinas por igual, y la hipoproteinemia ocurre por dos mecanismos: (1) pérdida de proteínas por las hemorragias o lesiones, y (2) paso de fluido extravascular al sistema vascular para restaurar el volumen plasmático, lo que genera una reducción en la concentración

de proteínas plasmáticas. Este último mecanismo es bastante rápido, siendo evidenciado dos a tres horas después de ocurrir el problema. La baja en la concentración proteica es compensada con albúmina de la linfa y aumento de la síntesis de albúmina en el hígado. La máxima disminución ocurre a veinticuatro horas de la hemorragia y los niveles pueden demorar una semana para volver a lo normal. Dentro de los procesos hemorrágicos se pueden incluir el parasitismo intestinal y úlceras de estómago o de intestino.

Dilución de proteínas séricas

Ocurre en la insuficiencia cardiaca congestiva o en hipertensión portal. En esas patologías hay retención de agua, que produce aumento de la presión hidrostática y disminución relativa de las proteínas totales con hipoalbuminemia moderada. Además de la dilución por el agua retenida, en esos procesos hay otros mecanismos que contribuyen a la baja de proteínas, tales como pérdidas en el fluido ascítico, disminución de la ingesta de alimento, síntesis reducida de proteínas hepáticas y síndrome de mala absorción. En la **Figura 3.16** aparece una guía para ayudar a identificar la causa en los casos de hipoproteinemia con hipoalbuminemia.

Hipoproteinemia por disminución de globulinas

Esta disminución es producida fundamentalmente por problemas de inmunodeficiencia debido a la ingestión inadecuada de calostro y disminución de gamaglobulinas en neonatos. Esos animales son susceptibles a infecciones y problemas parasitarios.

Electroforesis de proteínas

La electroforesis es realizada para obtener información adicional sobre las diferentes fracciones proteicas. Es una técnica que permite la separación de los diversos tipos de proteínas en un soporte (acetato de celulosa o gel de agarosa) bajo la influencia de un campo eléctrico. Así, a pH alcalino, la mayoría de las proteínas están cargadas negativamente, y al aplicar un campo eléctrico migran al polo positivo con diferente velocidad dependiendo de sus propiedades físicas, obteniendo su separación en fracciones. Para revelar las proteínas separadas en la electroforesis el soporte es tratado con colorantes específicos (negro de amido, azul de coomassie o de bromofenol), apareciendo las fracciones proteicas como bandas con intensidad de color variable que pueden ser cuantificadas por un densitómetro. Los resultados se muestran en un proteinograma o imagen de las fracciones proteicas (**Figura 3.17**). La anchura y altura de cada fracción indica la cantidad relativa de cada fracción proteica. Combinando esa información con la concentración de proteínas totales (determinada por refractometría o colorimetría) es posible calcular los valores absolutos de cada fracción proteica.

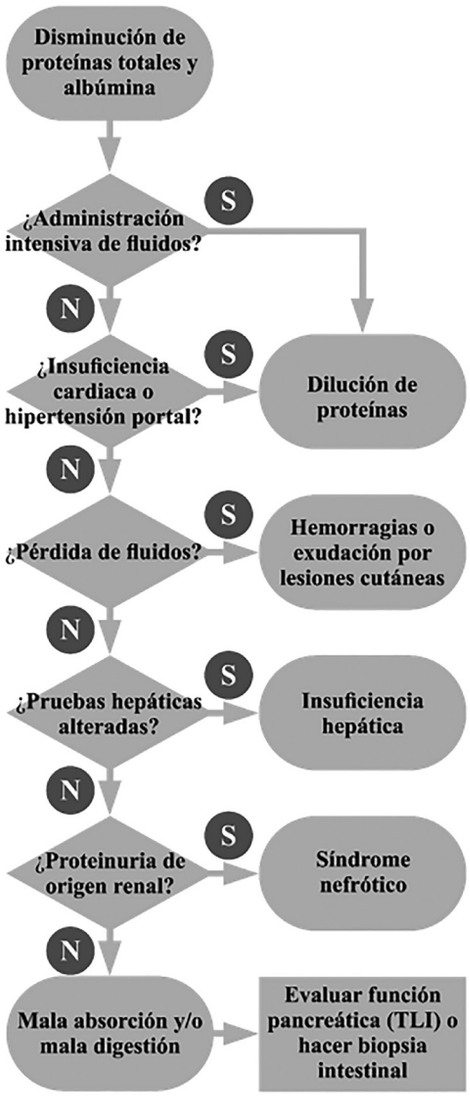


Figura 3.16. Fluxograma para identificación de las causas de disminución de proteínas totales y albúmina (en ausencia de problemas en la dieta o mala nutrición)

TLI, Tripsina inmunoreactiva. S, sí: N, no.

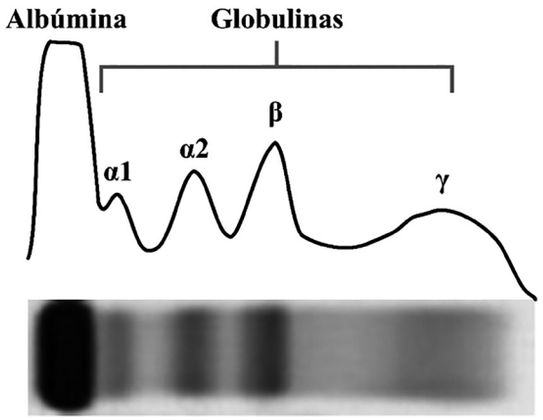


Figura 3.17. Proteinograma electroforético con las diferentes fracciones

El gráfico corresponde al trazado densitométrico del gel que se muestra abajo.

En general, son diferenciadas, como mínimo, cinco fracciones proteicas en la electroforesis:

- Albúmina: teniendo mayor electronegatividad, la albúmina migra a mayor velocidad y aparece más próxima del polo positivo. Esta fracción está representada por un pico agudo, integrado por apenas una proteína.

- Alfa-globulinas: de forma global, las fracciones α (1 y 2) están integradas por dos componentes, las proteínas de fase aguda y las lipoproteínas. Las proteínas de fase aguda muestran variación en su concentración cuando ocurre cualquier proceso inflamatorio y, por tanto, constituyen importantes marcadores tempranos de la inflamación. Se diferencian en dos tipos: (1) proteínas de fase aguda negativas, que disminuyen su concentración ante la inflamación (albúmina y transferrina); (2) proteínas de fase aguda positivas, que aumentan su concentración con la inflamación (haptoglobina, proteína C reactiva, amiloide sérica A, α-glicoproteína y ceruloplasmina). La magnitud de la respuesta de cada proteína varía de acuerdo a la especie; así, en rumiantes la haptoglobina es la proteína que más aumenta, mientras que en el perro es la proteína C reactiva.

- Beta-globulinas: en esta fracción, aunque hay otras proteínas, como la transferrina, se destacan proteínas con función inmunológica, como las inmunoglobulinas IgM e IgA. También en esta fracción aparece la proteína C reactiva, una de las proteínas de fase aguda que más aumenta en el perro por la inflamación. En las β-globulinas se incluyen también compuestos que pueden producir interferencias o artefactos, como fibrinógeno y hemoglobina (importantes en muestras con hemólisis).

- Gama-globulinas: esta fracción está integrada apenas por las inmunoglobulinas, siendo dividida por algunos autores en dos fracciones: (1) gama 1, integrada por IgM e IgE; (2) gama 2, integrada por la IgG. Las inmunoglobulinas están distribuidas entre las fracciones β y γ. De esa forma, las IgA y parte de las IgM están en la fracción β, mientras que en la fracción γ están el resto de las IgM y parte de las IgG, las cuales, cuantitativamente y en condiciones normales, representan 85 % de las inmunoglobulinas.

Valores de referencia del proteinograma

El suero contiene un gran número de proteínas diferentes, y la electroforesis permite separar esas proteínas en grandes fracciones que, a su vez, están integradas por un gran número de proteínas distintas. En función de las condiciones de la electroforesis (soporte, voltaje y pH del *buffer*) y del poder resolutivo de la técnica utilizada en el laboratorio, podrá visualizarse un número mayor o menor de picos con diferente calidad. Así, el número y el nombre de los picos varían en los diferentes laboratorios, incluso en la misma especie animal. También contribuye para esa variabilidad la falta de una normativa clara que permita separar las diferentes fracciones, ya que la única claramente definida es la situación de la albúmina (más próxima del polo positivo) y el punto de separación entre las fracciones α y β (punto medio del proteinograma); el resto de fracciones son separadas con base en el aparecimiento de valles o zonas en forma de U en el trazado electroforético. Esta situación hace que se recomiende para cada laboratorio que tenga sus propios valores y trazados electroforéticos normales establecidos y validados para cada especie animal, y que el clínico considere esta variabilidad a la hora de enviar muestras para diferentes laboratorios.

Interpretación clínica del proteinograma

Para realizar la interpretación del proteinograma conviene seguir los siguientes pasos:

1. Considerar siempre la anamnesis, el cuadro clínico del animal y otros parámetros analíticos del perfil básico. Dentro del cuadro clínico es importante indicar el grado de hidratación del animal.

2. Considerar la calidad de la muestra, ya que la hemólisis y la lipemia pueden influir en la interpretación del proteinograma.

3. Interpretar las proteínas totales y los niveles de albúmina y globulinas.

4. Interpretar el proteinograma de acuerdo a los siguientes puntos:
   - Características de la albúmina: el pico de albúmina permite apreciar la calidad del proteinograma, porque siempre migra al mismo lugar y debe tener una base estrecha. Pueden encontrarse los aumentos o bajas de albúmina ya explicados.
   - Características de la fracción alfa: (1) Aumentos de α-1 y de α-2 globulinas, que ocurren en varios procesos patológicos, como problemas inflamatorios agudos, en que aumentan las proteínas de fase aguda integradas en esta fracción, sobre todo la haptoglobina, entre los cuales se presentan problemas infecciosos y parasitarios, traumatismos y tumores. También ocurren en el síndrome nefrótico, en que aumentan las lipoproteínas de esta fracción. Empero, este disturbio generalmente es diagnosticado previamente por la presencia de proteinuria, sin señales de inflamación en el tracto urinario, de forma que el proteinograma en ese caso sería complementario. También puede haber altas concentraciones de α-2 globulinas en perros tratados con corticoides. La causa puede ser la movilización de lipoproteínas, aunque pueda ser más importante el aumento de haptoglobina inducido por los corticoides. (2) Baja de α-2 globulinas, hecho que puede ser debido a hemólisis intravascular, o por formación de complejos hemoglobina-haptoglobina, que son fagocitados por los macrófagos del sistema retículo-endotelial, especialmente en el hígado, causando disminución de haptoglobina. Eso puede ser confirmado por otros hallazgos, como baja en el valor del hematocrito y diversas señales analíticas y clínicas de anemia hemolítica. La baja de esta fracción puede estar enmascarada por un proceso inflamatorio asociado a hemólisis.
   - Características de las fracciones beta y gama: (1) Elevación de las β-globulinas. Con excepción de aumentos debido a la transferrina en casos de déficit de hierro (anemia ferropénica), es raro encontrar aumento aislado de la fracción β. Así, casi siempre la elevación de β-globulinas está relacionada con aumentos de la fracción gama. En ocasiones aparece un pico único de las dos fracciones denominado 'bloqueo beta-gama', producido por aumento de varias inmunoglobulinas. (2) Elevación de las γ-globulinas. Ocurre en gran cantidad de procesos denominados gamapatías, que pueden ser divididas en policlonales y monoclonales, diferenciadas mediante el proteinograma. Para eso, se compara la fracción gama con la base de la fracción albúmina; si resulta similar a la albúmina (estrecha), estará integrada por una sola proteína (monoclonal); si el pico tiene la base ancha comparada con la albúmina, contendrá diferentes proteínas (policlonal). La gamapatía policlonal está relacionada con procesos inflamatorios de tipo crónico, como infecciones-infestaciones crónicas o enfermedades inmunomediadas. La gamapatía monoclonal es producida por proliferaciones clonales de células neoplásicas de la serie de linfocitos B, como en casos de tumores de células plasmáticas (mieloma múltiple o plasmocitoma), y en leucemia linfocítica crónica de células B funcionales o linfoma de células B funcionales.

Proteínas de fase aguda

El estudio de las proteínas de fase aguda (PFA) comenzó con el descubrimiento de la proteína C reactiva (CRP) en 1930. Las PFA participan en la reacción de fase aguda del organismo, que fue definida por primera vez en 1941 por Abernethy y Avery como la respuesta del organismo a lesión, infección o trauma de un tejido o a trastornos inmunológicos o metabólicos. La reacción de fase aguda comprende una serie de eventos destinados a prevenir el daño a los tejidos, eliminar los organismos

infecciosos y mejorar el proceso de recuperación de la homeostasis (equilibrio) en el organismo. Ella inicia con los macrófagos del tejido afectado o con los monocitos y linfocitos sanguíneos que liberan una serie de mediadores químicos, entre los cuales están las citoquinas, que actúan sobre fibroblastos y células endoteliales vecinas a la lesión causando una segunda onda de citoquinas, que disparan la reacción de fase aguda actuando local y sistémicamente. Localmente, las citoquinas median el reclutamiento de neutrófilos y células mononucleares al lugar de inflamación. Sistémicamente, actúan sobre el sistema inmune, la médula ósea, el cerebro y el hígado (**Figura 3.18**). La reacción es complementada con la respuesta febril, aumento de ACTH, leucocitosis y alteración de la expresión hepática de las PFA.

La función de las PFA se refleja en sus actividades atribuidas, tales como retirar restos celulares, hemoglobina y radicales libres, unir componentes bacterianos, activar el complemento, hacer redistribución del colesterol y promover la producción de inmunoglobulinas. Las PFA hepáticas han sido clasificadas en positivas y negativas dependiendo de su aumento o disminución, respectivamente, ante un estímulo inflamatorio. Entre las PFA negativas están la albúmina y la transferrina. Entre las PFA positivas están la haptoglobina (Hp), la proteína C reactiva (CRP), la amiloide sérica A (SAA), la ceruloplasmina (Cp), el fibrinógeno y la glicoproteína α1-ácida (AGP o ASG).

Una aplicación práctica del análisis de las PFA es como auxiliar en el diagnóstico de enfermedades inflamatorias e infecciosas con bastante sensibilidad, al punto que han sido llamadas 'termómetros químicos'. También han sido detectados aumentos en casos de trauma quirúrgico, estrés de transporte y en trastornos metabólicos como acidosis y lipidosis hepática. En casos de mastitis en vacas los valores pueden aumentar tanto en sangre como en leche. Las PFA tienen patrones de secreción y de comportamiento diferentes dependiendo de la especie animal (**Tabla 3.5**). Se consideran PFA principales las que, después de un estímulo, aumentan más de cien veces su valor basal y PFA moderadas aquellas que tienen aumentos de dos a tres veces.

Haptoglobina

La haptoglobina (Hp) es una glicoproteína tetramérica que tiene la propiedad de unirse a la hemoglobina. Esta propiedad le permite retirar la hemoglobina de circulación y llevarla al hígado para ser catabolizada a fin de prevenir lesiones renales y evitar su pérdida por la orina cuando ocurre hemólisis. La Hp es considerada una de las principales PFA, principalmente en rumiantes, ya que en los animales sanos su concentración sérica es muy baja o incluso indetectable, mientras que en varios estados patológicos ocurren aumentos considerables, llegando a ser hasta de cien veces su valor basal. El aumento de la Hp es rápido y permite detectar animales infectados antes de la presentación de señales clínicas, siendo su concentración usada como indicador de severidad de la infección. El hallazgo reciente de que la Hp es secretada por la leche y que aumenta su concentración en casos de mastitis le da gran potencial en el diagnóstico precoz de este problema en rumiantes, aún más con evidencias de que los aumentos serían detectados antes de aumentar el conteo de células somáticas, hasta ahora considerado el indicador más sensible en estos casos (*gold standard*). En porcinos la Hp ayuda en el monitoreo del estado sanitario y del nivel productivo, observándose aumentos en varios tipos de infecciones bacterianas y en situaciones de estrés por transporte o presacrificio. En perros los niveles de Hp muestran correlaciones positivas y aumento en condiciones inflamatorias y por aplicación de corticoides.

Amiloide sérica A

La proteína amiloide sérica A (SAA) es una apolipoproteína asociada a proteínas HDL durante la respuesta de fase aguda. Su nombre se debe a la semejanza con la amiloide A, una proteína fibrosa presente en la amiloidosis sistémica. Junto con la Hp han sido estudiadas como las principales PFA en los rumiantes. La Hp y la SAA sufren aumentos en animales transportados en camión 24 a 48 horas después del inicio, lo que está relacionado con otros indicadores de estrés (neutrofilia y linfopenia). La relación entre estrés y PFA está ligada a la modulación que los glicocorticoides ejercen sobre la producción hepática de estas proteínas. El potencial de las PFA con relación a estudios de bienestar animal y estrés deberá ser más explorado en el futuro. En rumiantes también ha sido encontrado aumento de SAA en casos de mastitis. En porcinos ocurren aumentos de SAA más rápidos que la Hp en casos de infecciones por *Actinobacillus*. En caballos la SAA es la PFA de elección, con grandes aumentos en casos de infecciones bacterianas o virales. Parece ser que en bovinos la SAA indicaría lesiones inflamatorias agudas, mientras que la Hp señalaría patologías más crónicas.

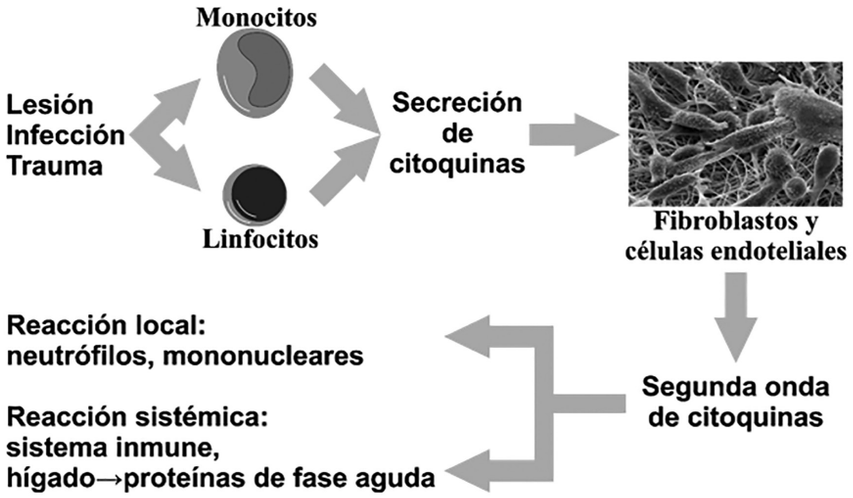


Figura 3.18. Eventos en la reacción de fase aguda del organismo

Tabla 3.5 Principales proteínas de fase aguda (PFA) en varias especies animales

Especie	PFA principales (aumentos > 100 veces)	PFA moderadas (aumentos de 2-3 veces)
Ruminantes	Haptoglobina, amiloide sérica A	Glicoproteína α-1 ácida, α-1 antitripsina, proteína C reactiva
Caninos	Proteína C reactiva, amiloide sérica A	Haptoglobina
Porcinos	Proteína C reactiva, amiloide sérica A	Pig MAP (*major acute phase protein*), haptoglobina
Caballos	Amiloide sérica A	Proteína C reactiva, fibrinógeno
Humanos	Proteína C reactiva, amiloide sérica A	Glicoproteína α-1 ácida, haptoglobina

Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (CRP) fue la primera PFA descrita (en 1930), y fue bautizada así por ser descubierta en el suero de humanos con infección neumocóccica, donde había reacción con el polisacárido C del neumococo. Posee más importancia en perros, felinos y porcinos, y menos en caballos y rumiantes. En perros con tumores la concentración de CRP sérica encontrada ha sido mayor en los animales con la enfermedad diseminada que en los que tienen neoplasia localizada o benigna.

Ceruloplasmina

La ceruloplasmina (Cp) ha sido estudiada como una glicoproteína de origen hepático transportadora de cobre. Sus aumentos con el estímulo inflamatorio son pequeños y se considera por tanto una PFA moderada. Han sido reportados aumentos en porcinos infestados con tenia y en bovinos con metritis y durante la involución uterina.

Glicoproteína α1-ácida

La glicoproteína α1-ácida (ASG) hace parte de las proteínas consideradas como seromucoides, caracterizadas por poseer cadenas de oligosacáridos, principalmente ácido siálico, en su estructura. Estas proteínas resisten a la precipitación con ácidos, siendo la fracción que queda soluble después de la adición de ácido perclórico. La ASG es considerada una PFA moderada.

Fibrinógeno

El fibrinógeno, glicoproteína de origen hepático, participa en la reacción de coagulación sanguínea (factor I), siendo el precursor de la fibrina que es convertida por acción de la trombina, en la etapa final del proceso. Por muchos años fue considerada la única proteína de fase aguda conocida, teniendo aumentos significativos en procesos inflamatorios agudos y crónicos, con mayor utilidad en rumiantes y caballos. Su determinación es por el método refractométrico y calentamiento a 56 ºC, lo que la hace la PFA más fácil de determinar. El método consiste en la obtención de dos muestras de sangre en capilares de microhematócrito centrifugadas y la determinación de la proteína en el plasma por el método refractométrico en una de ellas (P_1), seguido de calentamiento a 56 ºC por tres minutos de la segunda muestra, centrifugación y nueva determinación de la proteína en el plasma (P_2). El valor de fibrinógeno corresponde a la diferencia de $P_1 - P_2$.

Albúmina

La albúmina es la principal proteína plasmática, siendo considerada una PFA negativa, o sea que disminuye su síntesis y concentración en procesos inflamatorios. El aumento de fibrinógeno y otras PFA, y la disminución de albúmina, se deben en parte a un cambio brusco de la producción de proteínas hepáticas con supresión de la síntesis de albúmina y aumento de la síntesis de PFA. Una vez que la concentración de proteína total permanece constante, se cree que otras proteínas como las globulinas y las PFA deben ocupar el espacio resultante de la disminución de albúmina circulante.

Transferrina

La transferrina es una glicoproteína plasmática transportadora de hierro. A pesar de que apenas 0,1 % del hierro total del organismo está ligado a la transferrina, ella constituye el más importante *pool* de este mineral por su altísima tasa de intercambio entre tejidos. La transferrina liga con gran afinidad Fe^{3+} pero no liga Fe^{2+}. Es considerada, junto con la albúmina, una PFA negativa. Un bajo nivel de transferrina, en casos de infecciones, puede llevar a anemia, ya que es necesaria para el transporte de Fe destinado a la síntesis de hemoglobina; por el contrario, una anemia ferropriva aumenta el nivel de transferrina.

3.7 Bibliografía

Abernethy, T. J., y Avery O. T. (1941). The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. *J. Exp. Med., 73*, 73-182.

Cole, D. J., Roussel, A. J., y Whitney, M. S. (1997). Interpreting a bovine CBC: Evaluating the leukon and acute-phase proteins. *Vet. Med., 92*, 470-478.

Colla, M. F., Valle, S. F., Secchi, P., Duda, N., Scalon, M., Dürr, J. W., y González, F. H. D. (2011). Plasma haptoglobin values in cows with different somatic cell counting in milk samples. *Acta Scientiae Veterinariae, 39*, 944-949.

Doolittle, R. F. (1985). Proteins. *Sci. Am., 253*, 88-99.

Eckersall, P. D., y Conner J .G. (1988). Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun*., *12*, 169-178.

Eckersall, P. D., Young, F. J., McComb, C., Hogarth, C. J., Safi, S., Weber, A., Fitzpatrick, J. L. (2001). Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet Rec., 148*, 35-41.

Eckersall, P. D. (2000). Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue Medicine Veterinaire, 151*, 577-584.

González, F. H. D., Hernández, F., Madrid, J., Martínez-Subiela, S., Cerón, J. J., y Tecles, F. (2011). Acute phase proteins in experimentally induced pregnancy toxemia in goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 23*, 57-62.

González, F. H. D., Martínez-Subiela, S., y Ceron, J. J. (2007). Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. *Anales de Veterinaria (Murcia), 23*, 5-17.

González, F. H. D., Tecles, F., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., Vasco, L. S., y Cerón, J. J. (2008). Acute phase protein responses in goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 20*, 580-584.

González, F. H. D., Ruipérez, F., Sánchez, J. M., Souza, J. C., Martínez-Subiela, S., y Cerón, J. J. (2010). Haptoglobin and serum amyloid A in subacute ruminal acidosis in goats. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 57*, 159-167.

Gruys, E., Obwolo, M. J., y Tuossaint M.J. (1994). Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet. Bull., 64*, 1009-1018.

Holmes, F. L. (1980). Hans Krebs and the discovery of the ornithine cycle. *Fed. Proc., 39*, 216-225.

Jentoft, N., Lerner, R. A., Benkovic, S. J., y Schulz, P. G. (1991). At the crossroads of chemistry and immunology: catalitic antibodies. *Science*, *252*, 659-667.

Kaneko, J. J. (1997). Porphyrins and the porphyrias. En J. J. Kaneko, J. W. Harvey y M. L. Bruss (Eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th ed. (pp. 205-221). San Diego, USA: Academic Press.

Martínez-Subiela, S., Tecles, F., Parra, M. D., y Cerón, J. J. (2001). Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. *Anales de Veterinaria (Murcia), 17*, 99-116.

Murata, H., Shimada, N., y Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J., 168*, 24-40.

Ortolani, E. L., Kitamura, S. S., Maruta, C. A., Antonelli, A., y Soares, P. C. (2002). Diuresis alleviates ammonia poisoning in cattle through ammonium excretion in the urine. En *Anais do XXII Congresso Mundial de Buiatria*.

Tezcan, I., Xu, W., y Gurgey, A. (1998). Congenital erythropoietic porphyria successfully treated by allogeneic bone marrow transplantation. *Blood, 92*(11), 4053-4058.

Wittwer, F., Reyes, J. M., Opitz, H., Contreras, P. A., y Bohmwald, H. (1993). Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Archivos de Medicina Veterinaria, 25*, 165-172.

Capítulo 4
Bioquímica clínica de lípidos

Los lípidos son definidos como biomoléculas insolubles en agua que pueden ser extraídas de las células por solventes orgánicos, como éter, cloroformo, hexano, acetona, etc. Sus conformaciones y funciones son muy variadas. Los lípidos más abundantes son los triglicéridos, que tienen función almacenadora de energía; los fosfolípidos hacen parte de las membranas biológicas; el colesterol tiene importantes funciones biológicas, es precursor de las hormonas esteroides y de los ácidos biliares y también hace parte de la estructura de las membranas; el ácido araquidónico es precursor de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, compuestos que regulan vías metabólicas y procesos inflamatorios. Finalmente, las vitaminas liposolubles tienen importantes funciones metabólicas. Entre las principales funciones de los lípidos en el organismo están las siguientes:

a) Constituir la estructura de las membranas biológicas (fosfolípidos, colesterol).

b) Mantener reservas de energía (triglicéridos).

c) Suministrar moléculas precursoras de las hormonas esteroides (colesterol) y de las prostaglandinas (ácido araquid***ó***nico).

d) Mantener el calor corporal y servir de soporte y protección de las vísceras (triglicéridos).

La función de servir como compuestos almacenadores de energía es ejercida por los triglicéridos de forma más eficiente que los glúcidos, debido a su estructura menos oxidada, formada por cadenas hidrocarbonadas. Mientras que la oxidación total de un triglicérido rinde aproximadamente 37,6 kJ/g, la oxidación de un glúcido rinde 16,7 kJ/g. Por otro lado, al estar menos hidratados que los glúcidos, los triglicéridos pueden ser almacenados de forma más concentrada. Debido a su hidrofobicidad y completa insolubilidad en el agua los triglicéridos quedan limitados en el espacio de las gotas citoplasmáticas que no afectan la osmolaridad del citosol y, por tanto, no contienen agua de solvatación como los glúcidos, lo cual aumenta el peso y volumen de la célula. La propia insolubilidad de los triglicéridos hace que los procesos de digestión y transporte de esos compuestos sean más complicados, pues ellos deben ser emulsificados en el intestino antes de ser absorbidos y solo pueden ser transportados en la sangre mediante las lipoproteínas.

Los lípidos pueden ser clasificados en:

1. Lípidos compuestos, aquellos que poshidrólisis rinden ácidos grasos: (a) triglicéridos: compuestos por glicerol y ácidos grasos; (b) fosfoglicéridos: compuestos por glicerol, ácidos grasos, grupos fosfato y grupos aminoalcohol; (c) esfingolípidos: compuestos por esfingosina, ácidos grasos y otros grupos (glúcidos, grupos fosfato y aminoalcoholes).

2. Lípidos simples, aquellos que poshidrólisis no producen ácidos grasos: (a) esteroles, el más importante en los animales es el colesterol; (b) derivados de ácidos grasos con función metabólica, como las prostaglandinas; (c) isoprenoides: vitaminas liposolubles A, D, E y K.

4.1 Digestión y absorción de los lípidos

La digestión de los lípidos tiene como objetivo hacer una emulsión miscible integrada por los compuestos hidrofóbicos, principalmente triglicéridos y colesterol, disolviéndolos para que se puedan absorber en el intestino delgado en la forma de ácidos grasos libres y monoglicéridos. Los fosfolípidos, por su característica anfipática, determinada por las porciones polar (grupo fosfato y base nitrogenada) y apolar (cadenas de ácidos grasos esterificados) ayudan a la emulsificación y, por tanto, a la absorción de los demás lípidos.

Animales monogástricos

La verdadera hidrólisis y emulsificación de los lípidos se realiza en el duodeno, gracias a la acción de los siguientes factores: (a) la bilis, secretada por el hígado; (b) la enzima lipasa y su cofactor colipasa, secretadas por el páncreas; la colipasa es una proteína que tiene como función estabilizar a la lipasa, protegiéndola de la acción inhibitoria de los ácidos biliares; y (c) la acción mecánica de los movimientos peristálticos del intestino. La acción más importante de la bilis es la formación de micelas, a fin de facilitar la digestión y la absorción de los lípidos en el intestino. La bilis favorece la emulsificación de la grasa, o sea, causa disminución del tamaño de las gotas lipídicas que entran al intestino con un diámetro de 50.000 nm y son convertidas en micelas de 300-1.000 nm. Los componentes de la bilis (**Tabla 4.1**) tienen propiedades emulsificantes por sus características anfipáticas. En bovinos y aves la bilis es verde por causa de los altos niveles de biliverdina. El pH de la bilis varía de acuerdo a la especie animal: en la vaca 6,7-7,5; en la oveja 5,9-6,7; en las aves 5,8-6,0; en el perro 7,4-8,5 y en el humano 7,8. No existe vesícula biliar en el caballo, la rata ni el venado. La gravedad específica de la bilis está en torno de 1,01 g/mL.

La bilis no es absolutamente necesaria para la absorción de grasa en el perro y la rata, especies en las que 30 %-40 % de los triglicéridos pueden ser absorbidos en ausencia de bilis después de su hidrólisis. Sin embargo, la absorción de colesterol y de vitaminas liposolubles es totalmente dependiente de la bilis. Así, en la insuficiencia pancreática puede haber deficiencia en la absorción de triglicéridos, pero la presencia de micelas de la bilis garantiza la absorción de colesterol y de las vitaminas A, D, E y K. La acción de la lipasa/colipasa es hidrolizar los triglicéridos en ácidos grasos libres y monoglicéridos; estos últimos tienen un ácido graso en la posición C2 y, a su vez, constituyen agentes emulsificantes gracias a su condición anfipática, polar por el glicerol y apolar por el ácido graso. Así, se va formando una emulsión cada vez más fina, lo que facilita la acción hidrolítica de la enzima y la formación de micelas cada vez menores. Las micelas interactúan con las microvellosidades intestinales, donde se absorben los monoglicéridos y los ácidos grasos libres. Los monoglicéridos con un ácido graso insaturado son más solubles en la micela que los que poseen ácido graso saturado. La hidrólisis de los ácidos grasos de cadenas corta y media (hasta doce carbonos) es más rápida que en el caso de los ácidos grasos de cadena larga (mayor que 12 carbonos). La bilis de la micela permanece en el duodeno para continuar emulsificando gotas lipídicas, pudiendo también recircular para el hígado a través de absorción en el yeyuno o bien excretarse por las heces. Después de la absorción, dentro de la mucosa intestinal los ácidos grasos y los monoglicéridos se reesterifican para formar triglicéridos y se combinan con colesterol, fosfolípidos y proteínas para formar los quilomicrones, lipoproteínas que constituyen la forma de transporte de los lípidos en el sistema linfático que desemboca en la circulación general vía ducto torácico. La reesterificación de los ácidos grasos en la mucosa intestinal es una etapa limitante en la velocidad de absorción de los lípidos. La absorción de los ácidos grasos de cadena corta y media es más rápida que la de los ácidos grasos de cadena larga, debido a que los primeros tienen mayor velocidad de hidrólisis ya que escapan del paso limitante de reesterificación después de la absorción. Esta observación es de importancia clínica en el tratamiento de síndrome de mala absorción, debido a la obstrucción biliar o linfática, o a la insuficiencia pancreática.

Los fosfolípidos son hidrolizados en el intestino a fosfoglicerato y ácidos grasos, forma como son absorbidos; después, en la célula epitelial intestinal son reesterificados para unirse a los quilomicrones. Los ácidos grasos de cadenas menores de doce carbonos no son transportados vía linfática después de ser absorbidos, sino que van directamente por la circulación portal para el hígado.

Tabla 4.1 Composición de la bilis

Componente	% del total	% de sólidos
Agua	97	..
Sólidos	2,52	100
Mucina y pigmentos[1]	0,53	21,3
Sales biliares[2]	1,93	36,9
Colesterol	0,06	2,4
Ácidos grasos	0,14	5,6
Sales inorgánicas[3]	0,84	33,3

[1] Bilirrubina y biliverdina; [2] derivadas de los ácidos taurocólico y glicocólico; [3] Na, Cl, K, Ca, Mg, HCO_3^-

Animales rumiantes

En general la dieta de los rumiantes es baja en lípidos, aunque se usen eventualmente suplementos de aceite vegetal. La fuente más frecuente de lípidos en la dieta de los rumiantes está constituida básicamente por los galactolípidos de los forrajes, que poseen alta proporción de ácidos grasos insaturados. Ocasionalmente consumen algunos triglicéridos contenidos en los cereales. Altas cantidades de grasa en la dieta de los rumiantes pueden causar disminución del apetito y en la digestibilidad de otros nutrientes, a menos que sean suministrados en la forma de lípidos 'protegidos'. Los terneros poseen una lipasa salivar secretada en la base de la lengua que hidroliza parte de los lípidos que ingresan en el tracto digestivo y tiene importancia en los neonatos, donde la producción de lipasa pancreática es baja. Los microorganismos del rumen hidrolizan los lípidos compuestos, liberando ácidos grasos. Los ácidos grasos insaturados son rápidamente reducidos (saturados) por las bacterias del rumen. El glicerol y la galactosa siguen un proceso fermentativo hasta convertirlos en ácidos grasos volátiles para ser absorbidos en el rumen.

Los ácidos grasos saturados producidos en el rumen son absorbidos en el intestino delgado, junto con otros ácidos grasos de origen microbiano, que tienen alta proporción de ácidos ramificados y de número impar de carbonos. En el intestino delgado de los rumiantes se forman micelas, aunque con menor cantidad de triglicéridos que en los monogástricos. La mayoría de los ácidos grasos son absorbidos en la parte inferior del yeyuno. A pesar de que el intestino de los rumiantes recibe principalmente ácidos grasos libres, también opera la absorción de monoglicéridos, como en los monogástricos. En las células intestinales se forman lipoproteínas que son transportadas por el sistema linfático. A diferencia de los monogástricos, en los rumiantes se forma mayor proporción de VLDL que de quilomicrones (75% y 25 %, respectivamente). Tanto en monogástricos como en rumiantes la tasa de absorción de los ácidos grasos es mayor para los insaturados y de cadena corta, que para los saturados y de cadena larga.

4.2 Ácidos grasos: la principal característica de los lípidos compuestos

Los ácidos grasos forman parte de la estructura de la mayoría de los lípidos. Son ácidos orgánicos hidrocarbonados, altamente reducidos, con cadenas de variada longitud (de 1 a 36 carbonos) y proporcionan a los lípidos compuestos su carácter hidrofóbico (**Figura 4.1**). Los ácidos grasos más abundantes en los animales son los de 16 y 18 carbonos (**Figura 4.2A**). Los ácidos grasos pueden tener insaturaciones, o sea, dobles enlaces en sus cadenas. Las insaturaciones generalmente están después del C-9 en dirección al grupo metilo-terminal (-CH_3) siempre separadas por grupos metileno (...-CH=CH-CH_2-CH=CH-...). Generalmente el doble enlace tiene configuración cis, lo que ocasiona un doblez rígido en la estructura del ácido (**Figura 4.2B**). El doble enlace se especifica con la letra griega delta mayúscula (Δ) y su posición con un número sobrescrito (ej. Δ^9). Los ácidos grasos existentes en la naturaleza son mayoritariamente de número par de átomos de carbono y lineares, o sea, sin ramificaciones. La excepción está en algunos ácidos grasos bacterianos, que son impares y ramificados, como en las bacterias del rumen, cuyos ácidos grasos son absorbidos en el intestino y aparecen en la leche de los rumiantes. El punto de fusión del ácido graso aumenta con la mayor longitud de la cadena, pero las insaturaciones disminuyen el punto de fusión en ácidos del mismo número de carbonos (**Figura 4.3**).

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son aquellos constituidos por uno a cinco carbonos y, debido a su tamaño, son hidrosolubles. Tienen importancia en animales rumiantes, pues se encuentran en altas cantidades en el rumen, como producto de la digestión de los glúcidos. De especial importancia en el metabolismo energético de esos animales son los ácidos acético, propiónico y butírico, así como el derivado beta-hidroxibutírico.

Ácidos grasos esenciales

La esencialidad, es decir, la necesidad de ingerir en la dieta algunos ácidos grasos insaturados, particularmente el ácido linolénico, es conocida desde 1928, cuando Evans y Burr demostraron la consecuencia del déficit de este ácido en ratas. Los animales superiores no tienen la capacidad metabólica de sintetizar esos ácidos, que deben, por tanto ser suministrados en la dieta. Existen diferencias en los requerimientos de los ácidos grasos esenciales, dependiendo de la especie animal. Los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico, adicionados a la dieta, corrigen los problemas ocasionados por su deficiencia, tales como eczemas y lesiones en el aparato

urinario. Los ácidos grasos esenciales se encuentran principalmente en los aceites vegetales; su función es diversa y no muy bien definida, participando en la síntesis de prostaglandinas, sustancias con función hormonal, y de leucotrienos, sustancias relacionadas con las células de defensa. Sin embargo, su principal función está relacionada con la integridad estructural de las membranas biológicas, como componentes de los fosfolípidos.

4.3 Los triglicéridos: mayor fuente de energía

Los triglicéridos son los lípidos más abundantes en la naturaleza y están conformados por una molécula de glicerol y tres de ácidos grasos, unidos mediante enlace éster. Son conocidos también como grasas neutras, ya que no contienen cargas eléctricas ni grupos polares. Los triglicéridos conforman los depósitos grasos en el tejido adiposo animal y en los vegetales, sobre todo en las semillas, pero no hacen parte de las membranas biológicas. Su principal función es servir como reserva de energía. Por ser compuestos menos oxidados que los glúcidos, las grasas rinden mayor cantidad de energía en la oxidación celular; también, por su característica hidrofóbica, las grasas se almacenan en menor espacio que los glúcidos, teniendo capacidad prácticamente ilimitada de almacenamiento. Los glúcidos, por el contrario, por estar hidratados tienen un límite de almacenamiento. La grasa animal se almacena en los adipocitos del tejido adiposo, debajo de la piel, en la cavidad abdominal y en la glándula mamaria y, además de servir de reserva energética, protege a los animales contra el frío en forma de aislante y también a las vísceras, amortiguando los movimientos fuertes.

La característica del triglicérido depende del tipo y la proporción de los ácidos grasos que lo conforman; en las plantas la proporción de ácidos grasos insaturados C-16 y C-18 es mayor que en las grasas de origen animal; en los derivados lácteos tiene importancia la presencia de ácidos grasos de cadena corta, los cuales provienen del metabolismo ruminal; en la grasa animal la suma de los ácidos grasos saturados C-16 y C-18 es un poco mayor que la de los ácidos grasos insaturados. Los aceites de origen vegetal son generalmente líquidos a temperatura ambiente (22 ºC), debido a la mayor proporción de ácidos grasos insaturados, mientras que las grasas de origen animal son sólidas a esa temperatura, por la mayor presencia de ácidos grasos saturados. La mantequilla tiene un punto de fusión más bajo (32 ºC) que la grasa animal (59,6 ºC) debido a la presencia de ácidos grasos de cadena corta.

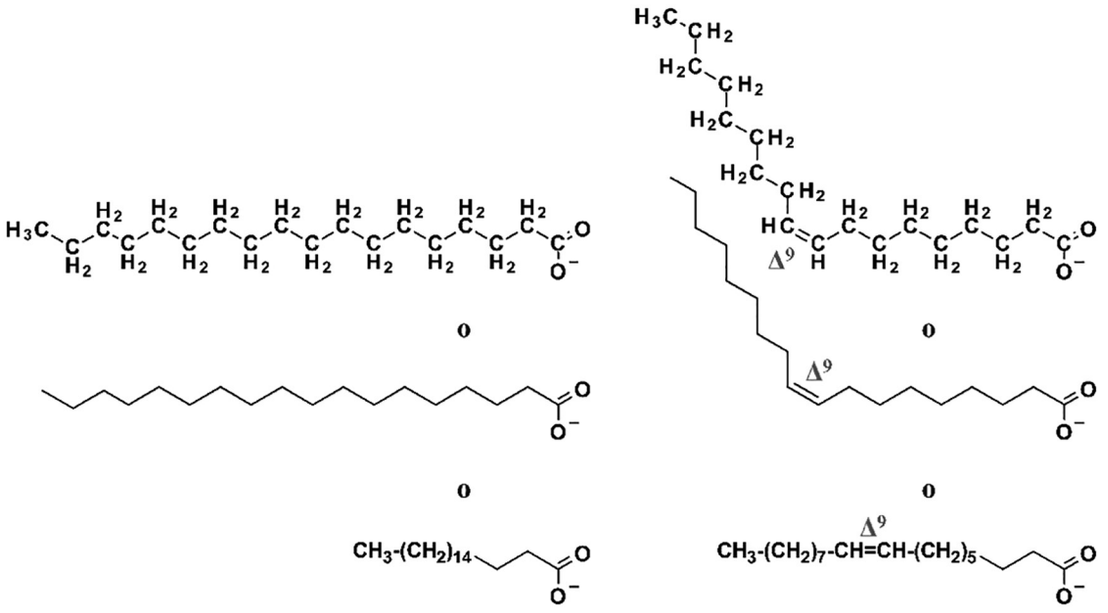


Figura 4.1. Diferentes formas de presentación de fórmulas estructurales de ácidos grasos

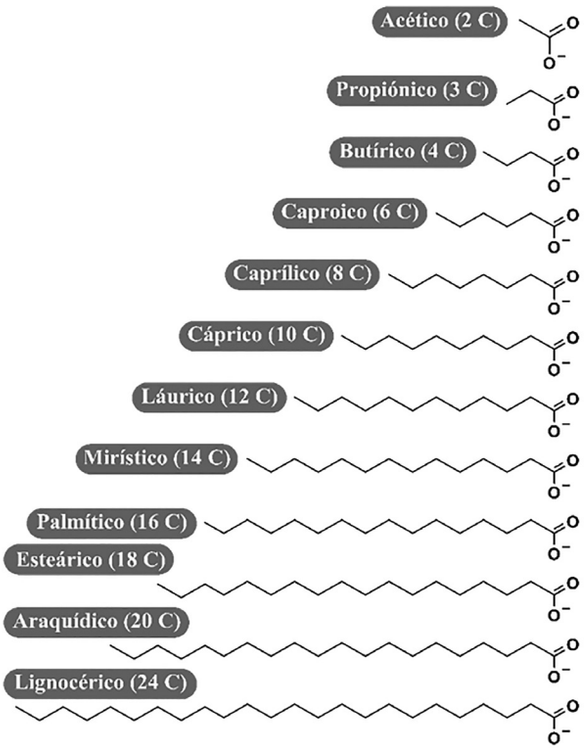


Figura 4.2A. Principales ácidos grasos saturados

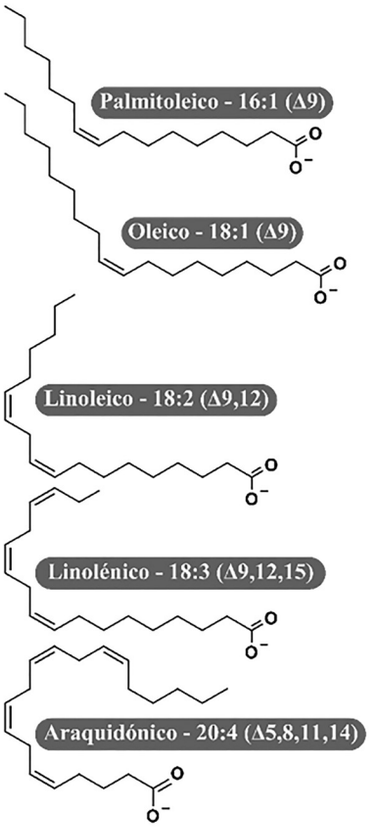


Figura 4.2B. Principales ácidos grasos insaturados

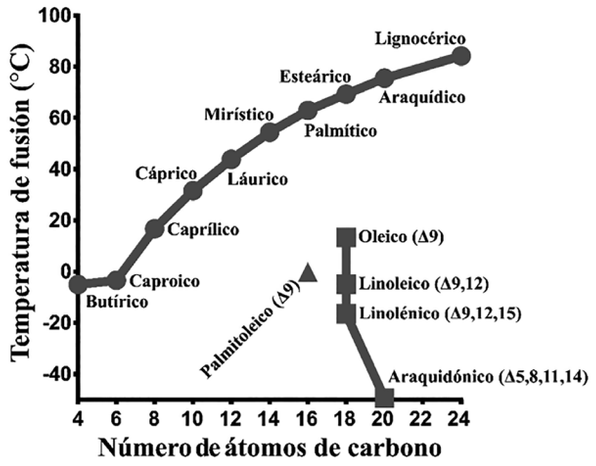


Figura 4.3. Temperatura de fusión de los ácidos grasos en función del tamaño de la cadena carbonada y del número de insaturaciones

Con relación a los ácidos grasos saturados, en la medida en que el número de átomos de carbono de la cadena aumenta desde el ácido butírico hasta el lignocérico, hay un aumento correspondiente en la temperatura de fusión. De manera inversa, la presencia de insaturaciones en la cadena carbonada resulta en menor temperatura de fusión, incluso cuando se comparan ácidos grasos con el mismo número de átomos de carbono (los ácidos esteárico, oleico, linoleico y linolénico tienen todos dieciocho átomos de carbono en la cadena).

Rancidez de los lípidos

Los lípidos pueden sufrir rancidez hidrolítica cuando existe liberación de los ácidos grasos unidos al glicerol por causa de enzimas hidrolíticas, generalmente procedentes de microorganismos; el ejemplo típico es el ácido butírico liberado de la mantequilla, que da un olor característico. Los lípidos también pueden sufrir rancidez oxidativa por oxidación de los carbonos comprometidos en los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, lo que ocurre en un ambiente con alta concentración de O_2 o en presencia de peróxidos o radicales libres producidos en el metabolismo de las células. Las membranas celulares son las más afectadas con esa oxidación, ya que altera la estructura de los fosfolípidos y el propio funcionamiento de la membrana. Para evitar esos eventos la célula utiliza mecanismos de reducción de peróxidos, a través del glutatión y la vitamina E. La teoría del envejecimiento señala que este se presenta cuando los mecanismos antioxidantes comienzan a fallar. Los ácidos grasos oxidados difícilmente son absorbidos por el intestino y pueden causar disfunciones intestinales; también

pueden interferir con el metabolismo lipídico causando problemas, como hígado graso, ataxia y distrofia muscular.

4.4 Lipoproteínas: transporte de los lípidos en la sangre

Después de su absorción en la célula de la mucosa intestinal los triglicéridos y los fosfolípidos reesterificados se combinan con una pequeña fracción de proteína para formar los quilomicrones, lipoproteínas de transporte de los lípidos desde el intestino hasta el hígado. Además de esos lípidos, los quilomicrones también cargan ésteres de colesterol, colesterol libre, ácidos grasos libres y vitaminas liposolubles. El proceso de formación de los quilomicrones depende de la síntesis de la fracción proteica en la mucosa intestinal. Ninguno de los lípidos encontrados en el plasma puede circular libremente por la corriente sanguínea debido a su insolubilidad en medio acuoso, y para su transporte tienen que estar unidos a lipoproteínas plasmáticas específicas. Los ácidos grasos libres, por su parte, viajan por el plasma asociados a la albúmina.

Las lipoproteínas plasmáticas son proteínas asociadas con lípidos que sirven para transportar por la sangre triglicéridos y, en menor cantidad, fosfolípidos y colesterol. La separación de lipoproteínas mediante ultracentrifugación divide seis fracciones en función de sus diferencias de densidad: HDL (lipoproteínas de alta densidad), LDL (lipoproteínas de baja densidad), IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), QM (quilomicrones) y remanecientes de QM. Las diferentes lipoproteínas difieren entre sí de acuerdo a la proporción de lípidos que contienen (entre 50 % y 90 %), lo que causa diferente densidad; mientras mayor sea el contenido de lípidos, menor es la densidad de la lipoproteína (**Figura 4.4**).

Las lipoproteínas con mayor contenido de lípidos y también las de mayor tamaño son los quilomicrones, sintetizadas en las células intestinales, encargadas de transportar triglicéridos desde el intestino delgado hasta el hígado. Remanentes de quilomicrones se refieren a partículas derivadas de los quilomicrones después de la remoción parcial de triglicéridos por la acción de la lipoproteína lipasa, enzima de membrana de las células, siendo, por tanto, ricos en colesterol y más densos que los quilomicrones. Las VLDL transportan triglicéridos del hígado a los tejidos periféricos y son sintetizadas en el hígado. Las LDL y las IDL se forman a partir de VLDL en el plasma, por acción de la enzima lipoproteína lipasa. Las LDL son las lipoproteínas que transportan mayor cantidad de colesterol. Las IDL, cuya densidad está entre 1,006 y 1,019, son designadas como importantes intermediarios lipolíticos entre VLDL y LDL. Las HDL son producidas en el hígado y transportan fosfolípidos y ésteres de colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su excreción. Las lipoproteínas HDL y las LDL transportan cerca del 90 % del colesterol y de los fosfolípidos en el plasma.

El colesterol plasmático en el perro es transportado igualmente por LDL (colesterol LDL) y por HDL (colesterol HDL). En los humanos el colesterol es transportado mayoritariamente por LDL, y cerca del 20 % por HDL. Esa división es importante, porque el aumento de colesterol LDL en los humanos ha sido asociado con aterosclerosis (acúmulo de gordura en las arterias) y por tanto con riesgo de sufrir problemas cardíacos, mientras que el aumento de colesterol HDL ha sido asociado con disminución del riesgo de sufrir problemas cardiacos.

Las porciones proteicas de las lipoproteínas se llaman apoproteínas, de las cuales existen varios tipos y parecen influir en la afinidad de las lipoproteínas por ciertos receptores celulares, regulando la distribución de los lípidos en los diferentes tejidos. Las apoproteínas B, C y E están asociadas a VLDL. En la conversión de VLDL en IDL y LDL se pierden algunas apoproteínas, de forma que la IDL contiene apo B y E, al tiempo que la LDL posee casi exclusivamente apo B. Por otro lado, la apoproteína más importante en la HDL es la apo C. La falla en la síntesis de apoproteínas en el hígado, debido a intoxicaciones (cloroformo, micotoxinas) o a procesos patológicos lleva a la acumulación de lípidos en el hígado, causando hígado graso o lipidosis hepática. Por otro lado, la deficiencia de colina causa el mismo problema debido a la falta de fosfolípidos, necesarios para la formación del complejo lipoproteico.

La lipoproteína lipasa, enzima presente en el endotelio de los capilares y en la membrana de las células adiposas, hidroliza los triglicéridos presentes en las lipoproteínas circulantes en ácidos grasos y glicerol, cumpliendo un importante papel en el equilibrio de las diferentes lipoproteínas. El glicerol permanece en la sangre y va al hígado, donde es metabolizado, mientras que los ácidos grasos entran en las células mediante

un transporte pasivo facilitado. Dentro de la célula adiposa los ácidos grasos son reesterificados para ser almacenados como triglicéridos; en la célula mamaria hacen parte de la grasa de la leche y, en las demás células, son oxidados para la obtención de energía.

4.5 Lipólisis: movilización de triglicéridos

En el estado de equilibrio energético, el nivel de ácidos grasos libres plasmáticos de la vaca está entre 100 y 300 µmol/L, nivel que puede aumentar en estados de deficiencia energética, cuando ocurre movilización de lípidos. Se encuentran mayores variaciones de la concentración sanguínea de ácidos grasos en regímenes alimentarios de refecciones separadas (monogástricos) que en regímenes de consumo permanente (rumiantes).

Los depósitos de triglicéridos en el tejido adiposo están sufriendo continua hidrólisis (lipólisis) y reesterificación (lipogénesis). Esos dos procesos inversos ocurren por dos vías metabólicas diferentes, cuya relación determina el nivel plasmático de los ácidos grasos. La movilización de los lípidos (relación lipólisis/lipogénesis) es un proceso controlado hormonalmente. Las hormonas que estimulan la lipólisis son principalmente adrenalina y glucagón, que son secretadas cuando disminuyen los niveles de glucosa sanguínea. Otras hormonas que también tienen acción lipolítica son ACTH, TSH, MSH, GH y vasopresina. Esas hormonas requieren de la acción permisiva de las hormonas tiroidianas y de los glucocorticoides para obtener mejor efecto. La insulina, a su vez, antagoniza el efecto de las hormonas lipolíticas, o sea, inhibe la acción de la lipasa y estimula la lipogénesis por activar las enzimas de la esterificación de los ácidos grasos y aumentar los niveles de glucosa en la célula adiposa. La glucosa es necesaria para la esterificación de los ácidos grasos, pues constituye la fuente de glicerol-3-fosfato.

El mecanismo para que actúen las hormonas estimuladoras de la lipólisis supone el aumento de AMP cíclico (cAMP) intracelular. De forma similar al mecanismo que desencadena la degradación de glucógeno, el cAMP activa una proteína quinasa que a su vez activa la lipasa hormona-sensible. La enzima que cataliza la formación de cAMP, la adenilciclasa, es inhibida por los ácidos grasos libres. Situaciones de estrés y de ejercicio físico fuerte causan aumento de la lipólisis debido al aumento de adrenalina. En la lipólisis, los triglicéridos almacenados en la célula adiposa sufren hidrólisis por acción de la lipasa hormona-sensible para producir tres ácidos grasos libres y glicerol. El glicerol no puede ser utilizado por el tejido adiposo y debe salir vía sanguínea al hígado para formar glucosa vía gluconeogénesis o entrar en la ruta glicolítica. Cuando la tasa de lipólisis supera la tasa de lipogénesis los ácidos grasos se acumulan en la célula adiposa y salen para el plasma, donde son transportados por la albúmina y llevados a los tejidos periféricos para servir como importante fuente energética. Los más esenciales de esos ácidos grasos son los de cadena larga, especialmente palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico.

Obtención de energía a partir de los ácidos grasos: β-oxidación

En los tejidos periféricos los ácidos grasos sufren oxidación para rendir moléculas de acetil-CoA, que pueden incorporarse al ciclo de Krebs a fin de generar energía. El tejido nervioso no utiliza ácidos grasos como fuente de energía, sino que usa preferiblemente glucosa y, en ayuno prolongado, cuerpos cetónicos. El nivel de ácidos grasos libres en el plasma revela el grado de movilización de la grasa de reserva, o sea que sirve de indicador del equilibrio energético del animal. Niveles plasmáticos de ácidos grasos libres superiores a 600 µmol/L en la vaca señalan una movilización anormalmente elevada de triglicéridos. El acetil-CoA también puede entrar a vías anabólicas u originar cuerpos cetónicos, compuestos hidrosolubles que sirven como fuente energética en el cerebro y en otros tejidos dependientes de glucosa cuando esta se encuentra deficitaria en ciertos estados metabólicos o patológicos. Los triglicéridos suministran más de la mitad de los requerimientos energéticos del hígado y del músculo cardíaco y esquelético. En los animales que hibernan y en las aves migratorias los triglicéridos son virtualmente la única fuente de energía.

El proceso de la β-oxidación de los ácidos grasos hasta acetil-CoA es realizado en la matriz de la mitocondria, llamado así porque la oxidación siempre se realiza en el carbono beta (C-3) del ácido. Además de rendir moléculas de acetil-CoA para que se continúen oxidando en el ciclo de Krebs, la β-oxidación también genera energía.

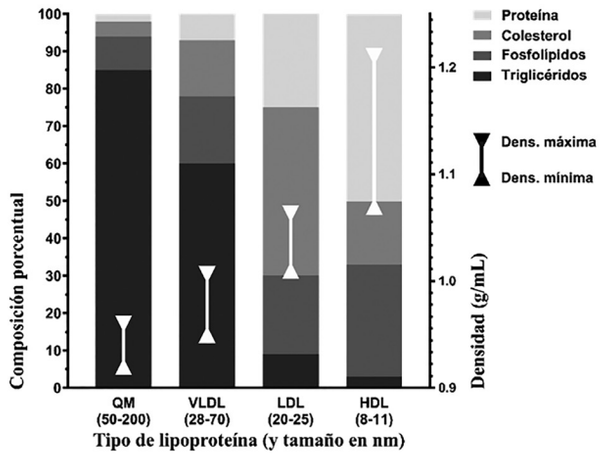


Figura 4.4. Composición y propiedades de las lipoproteínas

Considerando los diferentes tipos de lipoproteínas, en la medida en que aumenta la proporción de proteína y disminuye la de triglicéridos hay un aumento correspondiente en la densidad. QM, quilomicrón; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad (*very low density lipoprotein*); LDL, lipoproteína de baja densidad (*low density lipoprotein*); HDL, lipoproteína de alta densidad (*high density lipoprotein*).

Antes de sufrir oxidación el ácido graso debe entrar en la mitocondria, proceso que comprende tres etapas y en el cual la carnitina actúa como transportador. Las reacciones que permiten el ingreso del ácido graso a la mitocondria son las siguientes (**Figura 4.5**):

1. Activación del ácido graso para producir acil-CoA en el citosol.
2. Transferencia del grupo acil al grupo hidroxilo de la carnitina, una vez que el acil-CoA no puede atravesar la membrana mitocondrial y la acil-carnitina puede hacerlo;
3. Formación de acil-CoA intramitocondrial.

La carnitina puede salir después para el citosol usando el transportador acil-carnitina/carnitina para permitir el ingreso de otros ácidos grasos. El acil-CoA en la matriz mitocondrial está pronto para sufrir β-oxidación, que consiste en la liberación de varias unidades de acetil-CoA, con la producción de dos coenzimas reducidas ($FADH_2$ y NADH) en cada vuelta oxidativa (**Figuras 4.6A y 4.6B**).

La β-oxidación tiene dos puntos de regulación: (1) cuando la relación $NADH/NAD^+$ es alta, o sea, cuando están completas las necesidades de energía, se inhibe la enzima β-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; (2) por otro lado, altas concentraciones de acetil-CoA (producto final de la β-oxidación) inhiben la enzima tiolasa.

Balance energético de la β-oxidación

El balance energético de la β-oxidación puede ser ilustrado con 1 mol de ácido palmítico (16 C), sabiendo que en cada vuelta de la β-oxidación se produce 1 acetil-CoA + 1 $FADH_2$ + 1 NADH, y que el ácido palmítico debe dar siete vueltas para completar su total oxidación hasta acetil-CoA. La reacción global de oxidación de este ácido se puede escribir así:

$$\text{palmitoil-CoA} + 7\ \text{CoA} + 7\ \text{FAD} + 7\ \text{NAD}^+ + 7\ \text{H}_2\text{O} \downarrow 8\ \text{acetil-CoA} + 7\ \text{FADH}_2 + 7\ \text{NADH} + 7\ \text{H}^+$$

La producción de ATP/mol de palmitoil-CoA será:

8 acetil-CoA (12 ATP/mol no ciclo de Krebs) = 96 ATP
7 $FADH_2$ (equivalentes cada uno a 2 ATP) = 14 ATP
7 NADH (equivalentes cada uno a 3 ATP) = 21 ATP
Total/mol de palmitato = 131 ATP

Se debe considerar, sin embargo, que se gastó un ATP para activar el palmitato a palmitoil-CoA y otro ATP para convertir el AMP formado en esa reacción en ADP. Así, el rendimiento líquido será de 129 ATP/mol de palmitato. Para calcular la eficiencia de conservación de la energía, se considera el proceso exergónico que ocurriría en un calorímetro:

$$\text{Palmitato} + 23\ \text{O}_2 \rightarrow 16\ \text{CO}_2 + 16\ \text{H}_2\text{O}$$
$$(\Delta G^o = -9.790\ \text{kJ/mol})$$

Y se compara con el proceso endergónico de formación de ATP bajo condiciones estándar:

$$129\ \text{ADP} + 129\ \text{Pi} \rightarrow 129\ \text{ATP} + 129\ \text{H}_2\text{O}$$
$$(\Delta G^o = +3.983\ \text{kJ/mol})$$

Así, la eficiencia de conservación de energía en condiciones-estándar *(in vitro*) es de:

$$(3.983/9.790) \times 100 = 40{,}7\ \%$$

Sin embargo, en las condiciones intracelulares, considerando las concentraciones reales de los reactivos, la eficiencia de conservación de energía puede llegar a 80 %.

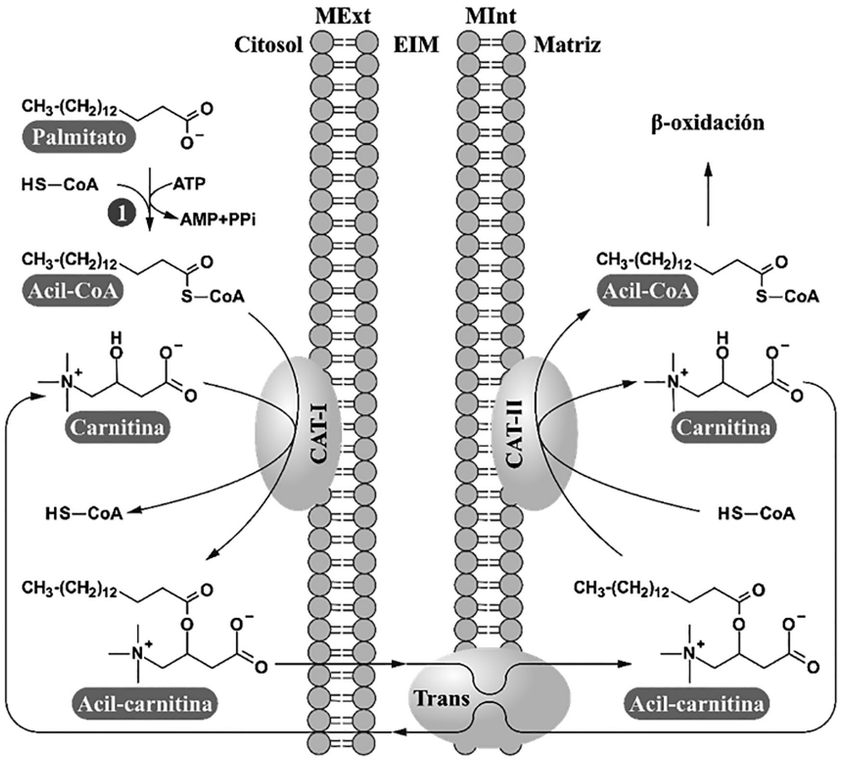


Figura 4.5. Transferencia de los ácidos grasos a la matriz mitocondrial previamente a la β-oxidación

En última instancia el ácido graso solo puede ser transportado al interior de la mitocondria unido a la carnitina, cuya disponibilidad determina la velocidad de oxidación de los ácidos grasos. Las enzimas participantes en el proceso son: [1] acil-CoA sintetasa; CAT-I, carnitina acil transferasa I; CAT-II, carnitina acil transferasa II. Trans, transportador acil-carnitina/carnitina; MExt, membrana externa de la mitocondria; EIM, espacio intermembranal de la mitocondria; MInt, membrana interna de la mitocondria.

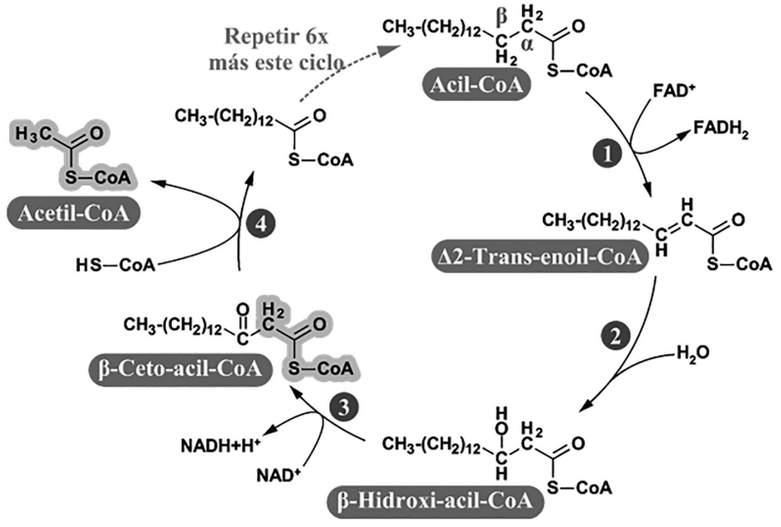


Figura 4.6A. Etapas de la β-oxidación de los ácidos grasos

El producto final es acetil-CoA y las reacciones ocurren en la matriz mitocondrial. Las enzimas participantes son: [1] acil-CoA deshidrogenasa, [2] Δ^2-enoil-CoA hidratasa, [3] β-hidroxi-acil-CoA deshidrogenasa y [4] tiolasa.

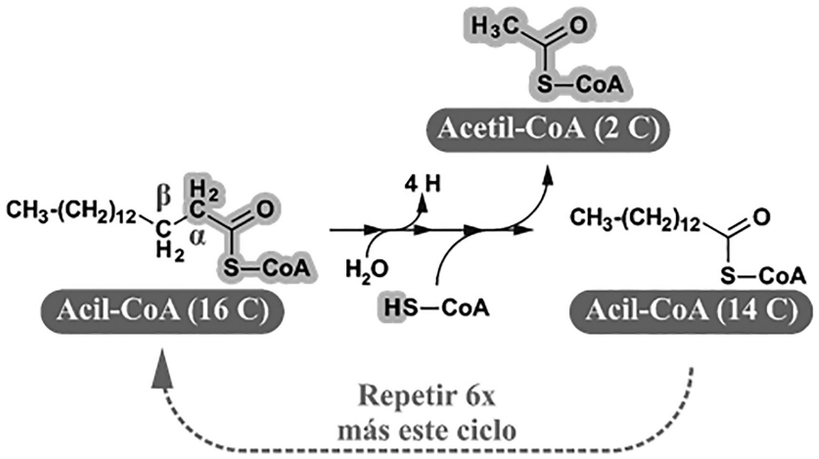


Figura 4.6B. Visión general de los ciclos de la β-oxidación de los ácidos grasos

A cada ciclo de β-oxidación se remueve una molécula de acetil-CoA (conteniendo dos átomos de carbono). Para la β-oxidación completa del palmitato (conteniendo dieciséis átomos de carbono, equivalente a ocho moléculas de acetil-CoA) son necesarias siete vueltas en el ciclo (tomando en consideración que en la última vuelta del ciclo se liberan dos moléculas de acetil-CoA).

El tejido adiposo marrón

El tejido adiposo marrón aparece en mamíferos recién nacidos y tiene la característica de que la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa se encuentran desacopladas debido a la acción de una proteína desacoplante integrada a la membrana interna de la mitocondria, llamada termogenina, la cual permite el flujo de los protones del espacio intermembranal para la matriz, pero evita que pasen por la ATP sintetasa, impidiendo la producción de ATP. De esta forma, la energía generada en la cadena respiratoria se libera en forma de calor. Este proceso parece ser vital para la supervivencia de los animales neonatos, debido a su deficiente sistema de termorregulación. Los animales que hibernan tienen el mismo mecanismo generador de calor metabólico. La grasa marrón tiene este color característico debido al gran número de mitocondrias en sus células adiposas. Las mitocondrias contienen grupos hemo en los citocromos, pigmentos que absorben la luz visible.

Diferencias en la oxidación de los ácidos grasos insaturados

Los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados de origen vegetal están en configuración *cis*, mientras que los intermediarios de la β-oxidación tienen configuración *trans*. Por otro lado, existe la posibilidad de encontrar en el trayecto de la oxidación de esos ácidos, grupos del tipo *cis*-Δ^3-insaturados, debido a la posición del doble enlace, mientras que los intermediarios de la β-oxidación son *trans*-Δ^2-insaturados, siendo esta la forma como son reconocidos por la enzima enoil-CoA hidratasa (**Figura 4.6A**, reacción 2). El problema se resuelve porque los ácidos *cis*-Δ^3-insaturados son sustrato de la enzima enoil-CoA isomerasa, la cual los convierte directamente en *trans*-Δ^2-enoil-CoA, para que puedan ser sustratos de la enoil-CoA hidratasa. En el caso de los ácidos grasos poliinsaturados pueden encontrarse dobles enlaces que impiden el avance normal de la β-oxidación. La acción secuencial de la enoil-CoA isomerasa junto a la enzima auxiliar 2,4-dienoil-CoA reductasa permite obtener ácidos *trans*-Δ^2. En la oxidación de los ácidos grasos insaturados no ocurre la primera deshidrogenación de la β-oxidación y, por tanto, no hay producción de $FADH_2$ cada vez que haya una insaturación en el ácido, lo cual significa que los ácidos insaturados contienen menos energía que los saturados. Por otra parte, varios de esos ácidos insaturados de origen vegetal son esenciales (linoleico, linolénico), teniendo, por tanto, gran valor nutricional.

La oxidación de los ácidos grasos de número impar de carbonos genera propionato

Muchas bacterias (ruminales e intestinales) producen ácidos grasos de número impar de carbonos que pueden ser absorbidos cuando ocurre la digestión de las bacterias y la absorción de sus componentes. En los rumiantes hay mayor presencia de este tipo de ácidos debido a la importancia de la flora ruminal. Esos ácidos son oxidados de la misma forma que los de número par de carbonos, con la diferencia de que, al final de la última vuelta, rinden una molécula de propionil-CoA en vez de acetil-CoA. El propionil-CoA es un precursor gluconeogénico que es metabolizado en el hígado para formar glucosa.

Cuerpos cetónicos

Los cuerpos cetónicos son intermediarios metabólicos cuya fuente básica son los ácidos grasos, aunque en rigor cualquier compuesto que pueda generar acetil-CoA (glucosa, lactato, glicerol, aminoácidos) se puede considerar como fuente de cuerpos cetónicos. En rumiantes el acetato y el butirato producidos en el rumen son importantes fuentes tanto de ácidos grasos de cadena larga como de cuerpos cetónicos. El propionato, principal precursor gluconeogénico en rumiantes, no es fuente de cuerpos cetónicos.

Formación de los cuerpos cetónicos

El acetil-CoA producido en la oxidación de los ácidos grasos puede entrar en el ciclo de Krebs o convertido en cuerpos cetónicos: acetoacetato, β-hidroxibutirato (BHB) y acetona, que son solubles en la sangre y excretados por la orina. La acetona, único cuerpo cetónico volátil, es la que se produce en menor cantidad (**Figura 4.7**). Los cuerpos cetónicos son producidos principalmente en el hígado y exportados a otros tejidos para servir como fuente de energía, donde se oxidan vía ciclo de Krebs. Ante condiciones de déficit energético, cuando existe movilización de las reservas lipídicas y producción de grandes cantidades de acetil-CoA, la formación y utilización de cuerpos cetónicos impide que el acetil-CoA se acumule y permite que siga ocurriendo la β-oxidación de los ácidos grasos. Ciertos tejidos dependientes de glucosa, como el cerebro, se adaptan a la utilización de cuerpos cetónicos cuando la glucosa está en déficit, como ocurre en el ayuno prolongado, en estados de subnutrición o en la diabetes mellitus. La formación de los cuerpos cetónicos se favorece cuando el oxalacetato, que debe condensarse con el acetil-CoA en el ciclo de Krebs, resulta limitante a consecuencia de: (1) un exceso de acetil-CoA proveniente del aumento de la oxidación de los ácidos grasos, y (2) una deficiencia de precursores gluconeogénicos. Los valores sanguíneos de β-hidroxibutirato en varias especies se muestran en la **Tabla 4.2**.

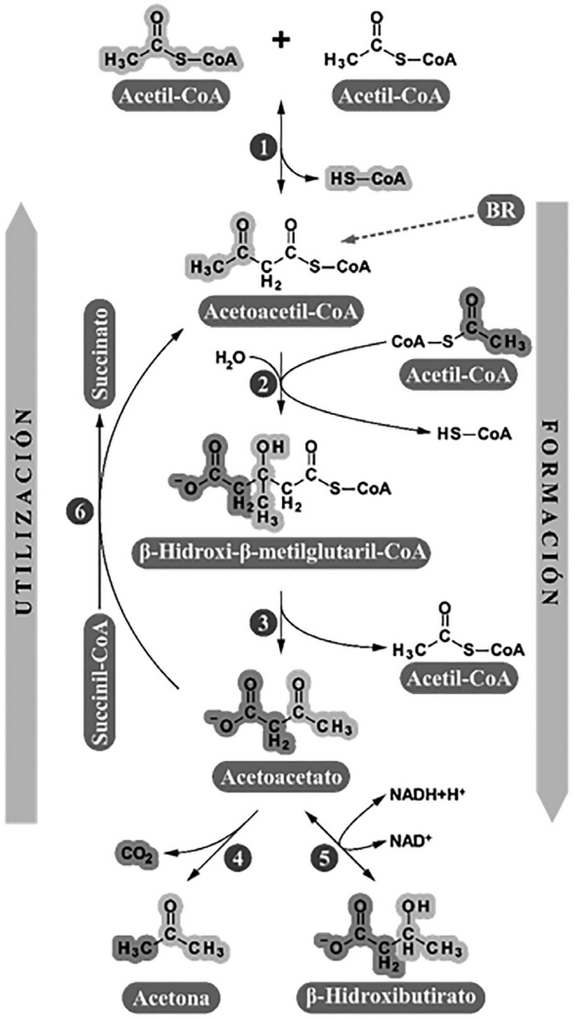


Figura 4.7. Rutas metabólicas de formación y utilización de los cuerpos cetónicos (acetoacetato, β-hidroxibutirato y acetona)

Las enzimas participantes son: [1] tiolasa, [2] HMG-CoA sintetasa, [3] HMG-CoA liasa, [4] acetoacetato descarboxilasa, [5] β-hidroxibutirato deshidrogenasa y [6] acetil-CoA transferasa. El punto de ingreso del butirato de origen ruminal (Figura 4.8) está indicado por BR. La ruta de formación de los cuerpos cetónicos comprende la acción consecutiva de las siguientes enzimas: 1→2→3→4 y/o 5. La ruta de utilización de los cuerpos cetónicos comprende la acción consecutiva de las siguientes enzimas: 5→6→1.

Tabla 4.2 Concentración plasmática de β-hidroxibutirato (BHB) en varias especies

Especie	Concentración de BHB (mg/dL)
Vaca	9,9 ± 1,9
Oveja	5,7 ± 0,4
Caballo	0,7 ± 0,06
Perro	0,3 ± 0,06

La acetona es volátil y tóxica para el organismo y se excreta por la respiración. Cuando se produce en cantidades superiores a lo normal en la cetosis causa un fuerte y característico olor en la respiración, señal que ayuda en el diagnóstico. El rumen también sintetiza cuerpos cetónicos a partir del butirato absorbido. En las células del epitelio ruminal el butirato es convertido en butiril-CoA y este, por β-oxidación, en BHB-CoA, que puede ser oxidado a acetoacetil-CoA (**Figura 4.8**). Después del clivaje de la coenzima A y de la reducción del acetoacetato resultante se forma BHB. El rumen tiene también las enzimas HMG-CoA sintetasa, HMG-CoA liasa y BHB deshidrogenasa, aunque en menor concentración que en el hígado.

El BHB es un metabolito importante en el perfil bioquímico de los rumiantes. Aproximadamente 50 % del butirato absorbido es oxidado para formar cuerpos cetónicos en la pared ruminal. Por esa razón los rumiantes poseen valores de referencia más elevados de cuerpos cetónicos en la sangre que los monogástricos.

Utilización de los cuerpos cetónicos en los tejidos

La forma como los cuerpos cetónicos entran al ciclo de Krebs para su utilización demanda la realización del inverso de las reacciones que los forman, con acetil-CoA como producto final (**Figura 4.7**).

4.6 La biosíntesis de los ácidos grasos

El organismo animal tiene la capacidad de sintetizar los triglicéridos a partir de acetil-CoA, con dependencia de la dieta solamente para los ácidos grasos esenciales (linoleico y linolénico). También deben sintetizarse fosfolípidos y esfingolípidos, que son importantes componentes de la membrana celular, así como lípidos con funciones específicas, como colesterol, esteroides y prostaglandinas, sintetizados a partir de acetil-CoA o de ácidos grasos esenciales. Los animales tienen una capacidad limitada para almacenar glucógeno en el hígado y en el músculo esquelético, de forma que el exceso de energía que ingresa en forma de glucosa, después de vencer el límite de almacenamiento de glucógeno, debe ser metabolizado vía glicólisis hasta acetil-CoA, a partir del cual se sintetizan ácidos grasos y posteriormente triglicéridos que se almacenan en las células adiposas. La biosíntesis de los ácidos grasos se realiza principalmente en el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria activa, mediante un sistema multienzimático presente en el citosol de las células animales, conocido como complejo ácido graso sintetasa (complejo AGS). Los ácidos grasos son sintetizados a partir de acetil-CoA, en el proceso

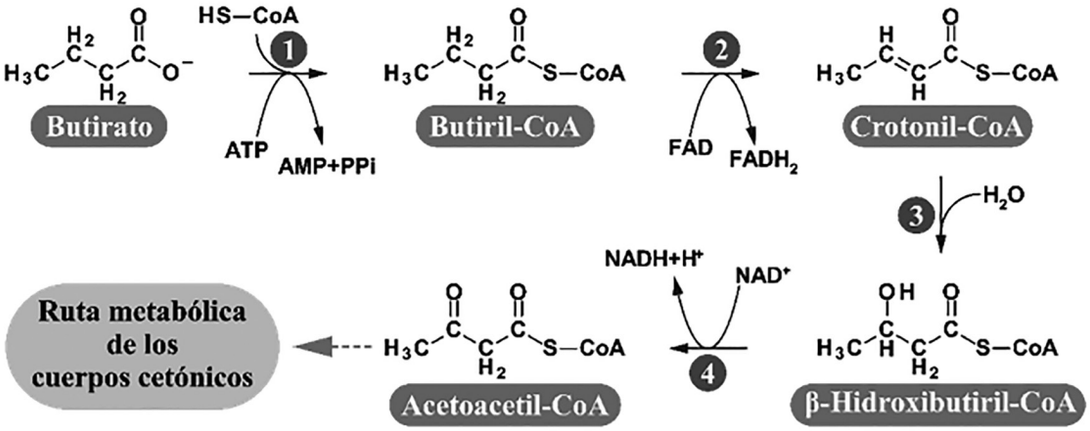


Figura 4.8. Utilización del butirato de origen ruminal

La cetogénesis en la mucosa ruminal comprende la conversión del butirato en acetoacetil-CoA, que a su vez puede ingresar en la ruta metabólica de los cuerpos cetónicos (Figura 4.7). Las enzimas participantes en esta ruta metabólica son: [1] tioquinasa, [2] acil-CoA deshidrogenasa, [3] enoil-CoA hidratasa y [4] β-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa.

conocido como síntesis *de novo* en el citosol, teniendo como producto final el ácido palmítico y, mediante la elongación del palmitato, generar otros ácidos grasos de cadenas más largas, por medio de un sistema presente en el retículo endoplasmático.

La síntesis *de novo* requiere de la coenzima NADPH y de Mn^{2+} como cofactor, además de ATP y HCO_3^- (como fuente de CO_2). El palmitato es el precursor de los demás ácidos grasos, excepto de los esenciales (linoleico y linolénico), que no pueden ser sintetizados por los mamíferos y deben ser consumidos en la dieta. La fuente de acetil-CoA proviene en gran parte de la mitocondria, producido en la oxidación del piruvato; el acetil-CoA puede salir al espacio citosólico a través de dos formas:

(1) Transfiriéndose a la carnitina, con acetil-carnitina transferasas, de manera invertida a lo que ocurre en la beta-oxidación (**Figura 4.5**);

(2) Incorporándose a oxalacetato para formar citrato, el cual puede atravesar la barrera mitocondrial y en el citosol sufrir la reacción inversa por medio de la enzima citrato liasa (**Figura 4.9**).

El NADPH necesario para las reacciones de síntesis de los ácidos grasos proviene de dos fuentes:

(1) En mayor cantidad, de la vía de las pentosas fosfato, especialmente en los adipocitos y la glándula mamaria activa.

(2) A partir de la enzima málica de los adipocitos, en una serie de reacciones que concomitantemente sirven para ingresar en la mitocondria el OAA citosólico, que fue utilizado para extraer acetil-CoA de la mitocondria en la reacción de la citrato liasa (reacción 4 en la **Figura 4.9**). El piruvato ingresa en la mitocondria y es convertido en OAA.

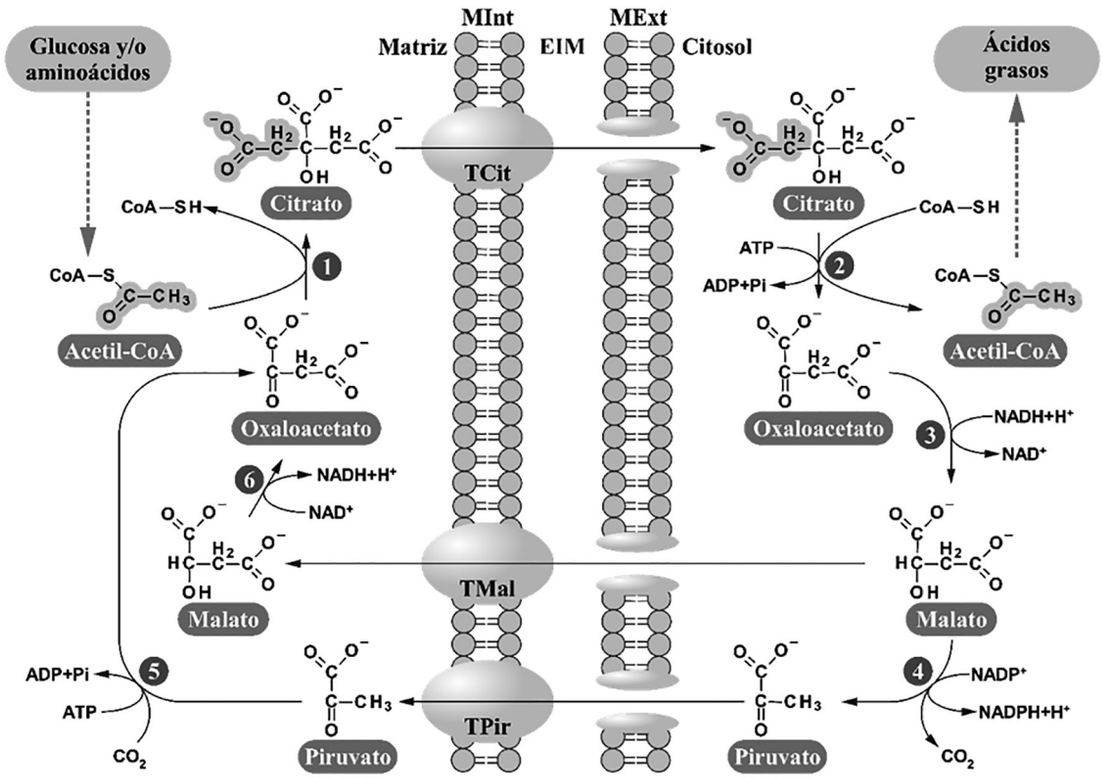


Figura 4.9. Transferencia del acetil-CoA de la matriz mitocondrial al citosol previamente a la síntesis de los ácidos grasos

Las enzimas participantes en el proceso son: [1] citrato sintetasa, [2] citrato liasa, [3] malato deshidrogenasa, [4] enzima málica, [5] piruvato carboxilasa y [6] malato deshidrogenasa. TCit, transportador de citrato; TMal, transportador de malato/α-cetoglutarato; TPir, transportador de piruvato; MExt, membrana externa de la mitocondria; EIM, espacio intermembranal de la mitocondria; MInt, membrana interna de la mitocondria.

En los rumiantes existen algunas diferencias con relación al metabolismo de los ácidos grasos:

(1) La fuente primaria de la síntesis de los ácidos grasos no es la glucosa, sino el acetato proveniente del rumen, siendo los principales sitios de síntesis de ácidos grasos el tejido adiposo y la glándula mamaria activa.

(2) No existen las enzimas citrato liasa y málica; en compensación, tienen como fuente de acetil-CoA el acetato libre y altos niveles de aconitasa y NADP-isocitrato deshidrogenasa citoplasmática, enzimas que realizan las siguientes reacciones sucesivas para generar suficiente NADPH:

$$\text{citrato}_{\text{citosol}} \rightarrow \text{isocitrato} + NADP^+$$

$$\downarrow$$

$$\alpha\text{-cetoglutarato} + CO_2 + NADPH + H^+$$

(3) Poseen altos niveles de acetil-carnitina transferasa para movilizar acetil-CoA de la mitocondria al citosol.

Acción del complejo sintetasa de ácido graso (SAG)

El acetil-CoA actúa como molécula primer o inicial, a partir de la cual se van adicionando otros grupos acetilos. Sin embargo, la molécula donadora de esos grupos acetilos adicionales es el malonil-CoA, compuesto de tres carbonos ($^-$OOC-CH_2-CO-SCoA). El malonil-CoA se sintetiza a partir del acetil-CoA, mediante la enzima acetil-CoA carboxilasa, que contiene biotina como coenzima y no forma parte del complejo (**Figura 4.10**).

La acetil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica y constituye el punto primario de regulación de la vía de síntesis de los ácidos grasos, siendo estimulada por el citrato e inhibida por el palmitato.

El complejo SAG posee siete enzimas relacionadas entre sí y una proteína transportadora de grupos acilos (ACP) de bajo peso molecular (10 kd) que tiene un grupo -SH derivado del ácido pantoténico. El peso molecular total del complejo AGS es de 240 kd, y su forma activa es un dímero con todas las enzimas duplicadas (peso total 480 kd). En cada reacción del complejo SAG se adicionan dos carbonos provenientes del malonil-CoA. Los primeros dos carbonos del ácido graso son los únicos que provienen del acetil-CoA (corresponde a los C-15 y C-16 del palmitato). Los restantes carbonos provienen del malonil-CoA. En la **Figura 4.11** se muestra la primera vuelta de la síntesis con la formación del butiril ligado a la SAG. La primera reacción ocurre solo una vez para producir el *primer*, mientras que la segunda debe ocurrir en cada vuelta, pues el malonil-ACP es el compuesto donador. La adición de HCO_3^- en los grupos acetilos para formar los malonil donadores y después tener que liberarlo como CO_2 tiene una explicación termodinámica: la condensación de un compuesto de dos carbonos sería un proceso endergónico termodinámicamente imposible en las condiciones intracelulares, mientras que la condensación del malonil-ACP es exergónico

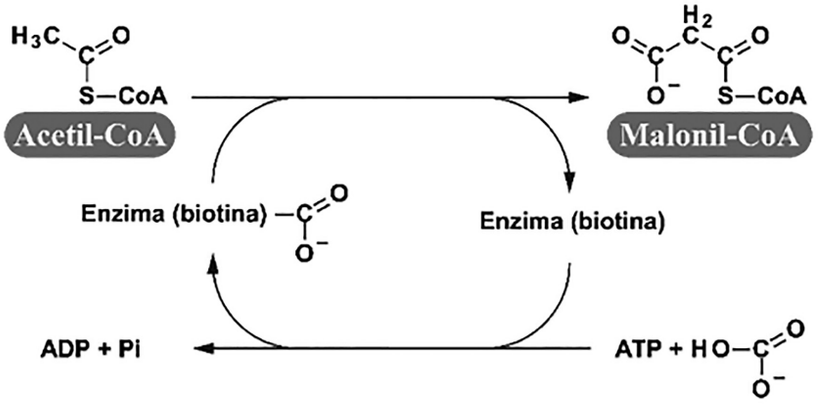


Figura 4.10. Formación del malonil-CoA para el inicio de la síntesis de los ácidos grasos

Esta reacción es indispensable para el inicio de la síntesis de los ácidos grasos y, posteriormente, para el suministro de unidades de malonil-CoA durante las etapas de síntesis del ácido graso. La enzima acetil-CoA carboxilasa tiene la biotina como grupo prostético, responsable de recibir el grupo carboxilo que viene del HCO_3- y que será transferido para el acetil-CoA.

debido a que la descarboxilación facilita el ataque nucleofílico de su grupo metileno (-CH_2-) sobre la unión tioéster del grupo acetilo (grupo acilo en las reacciones siguientes), unido al grupo -SH de la β-cetoacil-ACP sintetasa. La energía para este proceso es obtenida por el ATP en la reacción de síntesis del malonil-CoA, a partir de acetil-CoA + HCO_3^-. El butiril-ACP formado luego de terminar la primera vuelta es transferido del grupo -SH de la ACP al Cys-SH de la β-cetoacil-ACP sintetasa (última etapa en la **Figura 4.11**), donde el grupo acilo en formación queda anclado, para reiniciar el ciclo, aprovechando que el complejo SAG es un dímero con las enzimas duplicadas.

Un nuevo grupo acetilo proveniente de un nuevo malonil-ACP, el cual ocupa ahora el sitio -SH de la ACP, se adiciona sobre el acil-ACP en formación, repitiendo el ciclo cinco veces más hasta generar el palmitato (**Figura 4.12**). En algunas ocasiones, probablemente pocas, se adicionan otros dos carbonos en una vuelta adicional para formar estearato (C18:0).

El palmitoil-ACP puede también ser transferido a la coenzima A por la enzima palmitoil-ACP transferasa:

palmitoil-ACP + CoA-SH → palmitoil-CoA + ACP-SH

La reacción global de la síntesis del palmitato es la siguiente:

8 acetil-CoA + 7 ATP + 14 NADH + 14 H^+ → palmitato + 8 CoA-SH + 14 NAD^+ + 7 ADP + 7 Pi + 7 H_2O

Regulación de la síntesis de ácidos grasos

El sitio primario de regulación de la síntesis de ácidos grasos es la formación de malonil-CoA en la reacción catalizada por la enzima acetil-CoA carboxilasa, controlada alostérica y covalentemente. El producto final de la vía, el palmitato, actúa como inhibidor alostérico, mientras que el citrato actúa como activador alostérico. Cuando existe un excedente de acetil-CoA y de ATP el citrato sale de la mitocondria y, además de actuar como modulador alostérico, sirve como fuente de acetil-CoA. La enzima acetil-CoA carboxilasa también puede ser regulada covalentemente mediante fosforilación de la enzima, evento modulado por hormonas. El

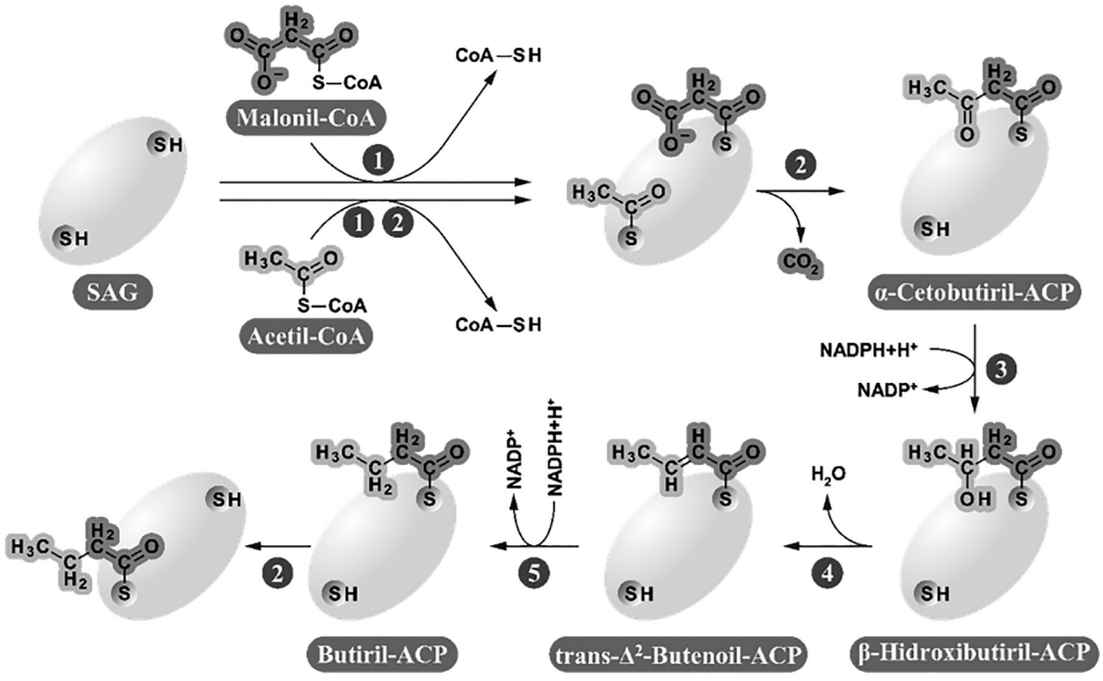


Figura 4.11. Etapas iniciales de la biosíntesis de los ácidos grasos

En estas etapas ocurre la formación del butirato, aún unido a la sintetasa de los ácidos grasos (SAG). El SH superior de la SAG corresponde a la extremidad de la ACP (*Acyl Carrier Protein*), mientras que el SH inferior corresponde a un residuo de cisteína en el domínio β-cetoacil-ACP sintetasa. Las actividades enzimáticas participantes son: [1] malonil/acetil-CoA transferasa, [2] β-cetoacil-ACP sintetasa, [3] β-cetoacil-ACP reductasa, [4] β-hidroxiacil-ACP deshidratasa y [5] enoil reductasa.

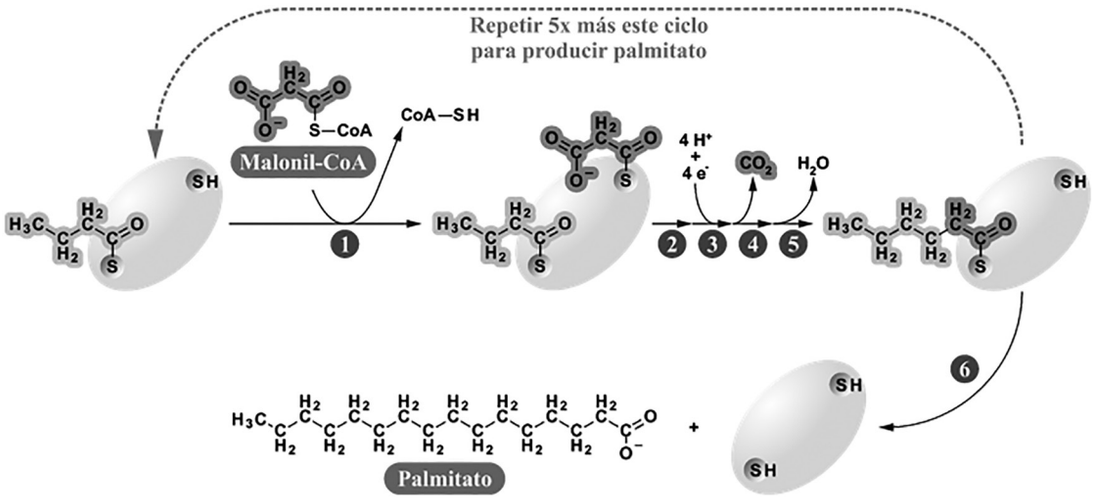


Figura 4.12. Etapas finales de la biosíntesis de los ácidos grasos

En estas etapas de la biosíntesis ocurre la elongación del butirato hasta la formación de palmitato. Las enzimas en las etapas de 1 a 5 son idénticas a las de la **Figura 4.11**. La enzima de la etapa [6] corresponde a tioesterasa.

glucagón y la adrenalina causan la fosforilación de la enzima, inhibiéndola y, por tanto, disminuyendo la síntesis de ácidos grasos, mientras que la insulina favorece la síntesis de ácidos grasos, pues estimula el complejo piruvato deshidrogenasa y la enzima citrato liasa, que catalizan reacciones suministradoras de acetil-CoA. Las principales diferencias entre la β-oxidación y la síntesis de los ácidos grasos están listadas en la **Tabla 4.3**. El producto final de la vía (palmitato), tiene dos destinos: (1) elongación de la cadena o insaturación; y (2) esterificación para producir triglicéridos o fosfoglicéridos.

Elongación del palmitato

En la mitocondria y en el retículo endoplásmico existen sistemas enzimáticos de elongación de ácidos grasos. En ambos casos el transportador de los grupos acilo es la coenzima A, en vez de la ACP. En la mitocondria ocurren adiciones de acetilos en el extremo carboxilo del palmitoil-CoA, en forma de acetil-CoA, en vez de malonil-CoA (**Figura 4.13**).

Introducción de insaturaciones en los ácidos grasos

Las insaturaciones sobre los ácidos grasos se realizan a partir del palmitato (16:0) y del estearato (18:0), que son los ácidos grasos precursores del palmitoleato (16:1, Δ^9) y del oleato (18:1, Δ^9), respectivamente. Las insaturaciones en estos ácidos son introducidas por la enzima Δ^9-monoxigenasa (acil-CoA desaturasa) presente en el retículo endoplásmico del hepatocito y del tejido adiposo. Un citocromo b_5 y una flavoproteína (citocromo b_5 reductasa) están envueltos en la reacción (**Figura 4.13**).

Los animales, a diferencia de los vegetales, no pueden formar los ácidos linoleico (18:2, $\Delta^{9,12}$) y linolénico (18:3, $\Delta^{9,12,15}$) a partir del oleico (18:1, Δ^9), debido a que no pueden introducir dobles enlaces entre el C-10 y el extremo metilo del ácido graso (extremo omega). Los ácidos linoleico y linolénico son esenciales para los mamíferos, pues estos no los pueden sintetizar. Esos ácidos son necesarios para la síntesis de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), además de formar parte de la estructura de las membranas y encontrarse en altas cantidades en los órganos reproductivos. Las bacterias del rumen pueden hidrogenar los ácidos grasos insaturados. Debido a ello, la grasa de los rumiantes es más dura que la grasa de los monogástricos, pues es más rica en ácidos grasos saturados, que tienen un punto de fusión más elevado. La consistencia de la grasa de los monogástricos tiene mayor relación con los ácidos grasos suministrados en la dieta.

Tabla 4.3 Diferencias entre la β-oxidación y la síntesis de ácidos grasos

Características	β-oxidación	Síntesis
Localización en la célula	Mitocondria	Citosol
Enzimas	Separadas	Complejo enzimático
Coenzima transportadora	NAD	NADPH
Transportador de acilos	Coenzima A	ACP
Unidades participantes	Acetil-CoA	Malonil-CoA

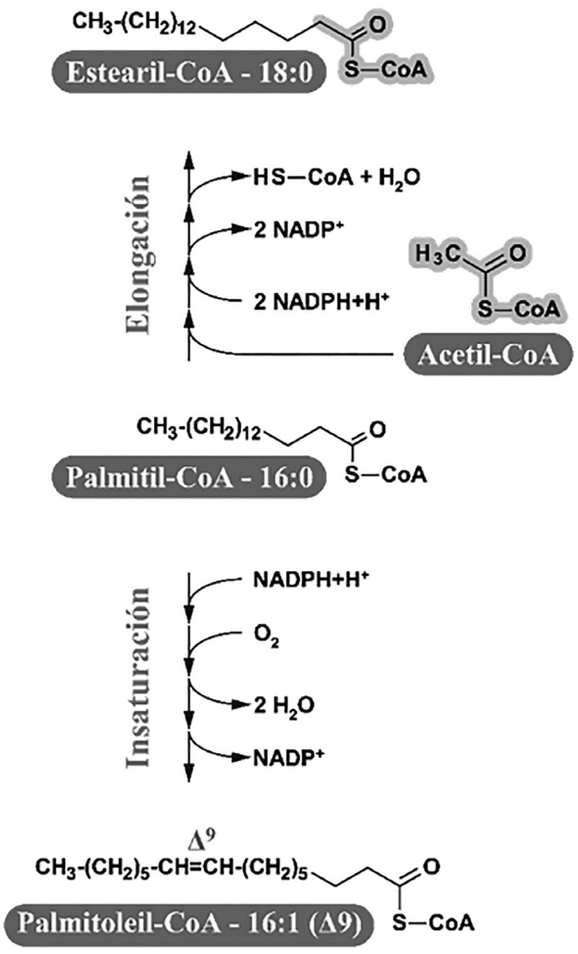


Figura 4.13. Modificaciones del palmitato para generar estearato (elongación) y palmitoleato (insaturación)

4.7 Lipogénesis: la biosíntesis de triglicéridos

La esterificación de los ácidos grasos con el glicerol genera los triglicéridos, que sirven de reserva de energía. En los animales la capacidad de almacenamiento de glucógeno está limitada para suministrar reservas energéticas por doce horas, mientras que las reservas energéticas en forma de triglicéridos son virtualmente ilimitadas para suplir energía por varios meses. La biosíntesis de los triglicéridos se realiza principalmente en el citosol de las células hepáticas, mamarias y adiposas. Una parte de los ácidos grasos de la leche se sintetizan en la glándula mamaria, y otra parte, significativa (35% - 75%), proviene de los ácidos grasos de la sangre. Aproximadamente 44% de la grasa de la leche se origina de triglicéridos ingeridos por la vaca, lo restante proviene de síntesis endógena.

La esterificación de los ácidos grasos se realiza sobre el glicerol-3-fosfato, cuya procedencia puede ser de dos fuentes: (a) de la glicólisis, a partir de la dihidroxiacetona fosfato, en una reacción catalizada por la enzima glicerol-3-fosfato deshidrogenasa: dihidroxiacetona fosfato + NADH + H^+ → glicerol-3-fosfato + NAD^+; y (b) del glicerol libre originado en la hidrólisis de triglicéridos que debe ser fosforilado por la enzima glicerol-quinasa, presente solo en el hígado y el riñón: glicerol + ATP → glicerol-3-fosfato + ADP.

El proceso de esterificación consta de cuatro etapas, ilustradas en la **Figura 4.14**. En la mucosa intestinal, donde hay elevada síntesis de triglicéridos, después de la absorción de monoglicéridos y de ácidos grasos, el ácido fosfatídico no es intermediario. La biosíntesis de triglicéridos (lipogénesis) y su degradación (lipólisis) son reguladas recíprocamente, dependiendo de las necesidades metabólicas en un control hormonal. La insulina promueve la lipogénesis

cuando hay excedente de energía, o sea, cuando hay equilibrio energético positivo, mientras que los glucocorticoides, el glucagón y la GH promueven la lipólisis cuando el equilibrio energético es negativo.

4.8 Importancia del colesterol

El colesterol es una molécula esencial para los animales, siendo necesario para la formación de membranas y para la síntesis de ácidos biliares y de hormonas esteroides. Las fuentes de colesterol son dos: la dieta y la síntesis de colesterol endógeno. La mayoría del colesterol endógeno es sintetizado en el hígado y exportado como éster de colesterol; este último se forma mediante la enzima lecitina-colesterol-aciltransferasa (LCAT), que transfiere un ácido graso de la lecitina para el colesterol, siendo transportado en la sangre por las lipoproteínas.

La cantidad de colesterol en los mamíferos está bajo control homeostático, y la tasa de biosíntesis de colesterol en el hígado (pero no en los demás tejidos) es inversamente proporcional al colesterol presente y a los ésteres de colesterol provenientes de la absorción intestinal. El colesterol es excretado a través de los ácidos biliares en la forma de sales (glicocolato y taurocolato de sodio o de potasio) al intestino, a fin de ayudar en la digestión de los

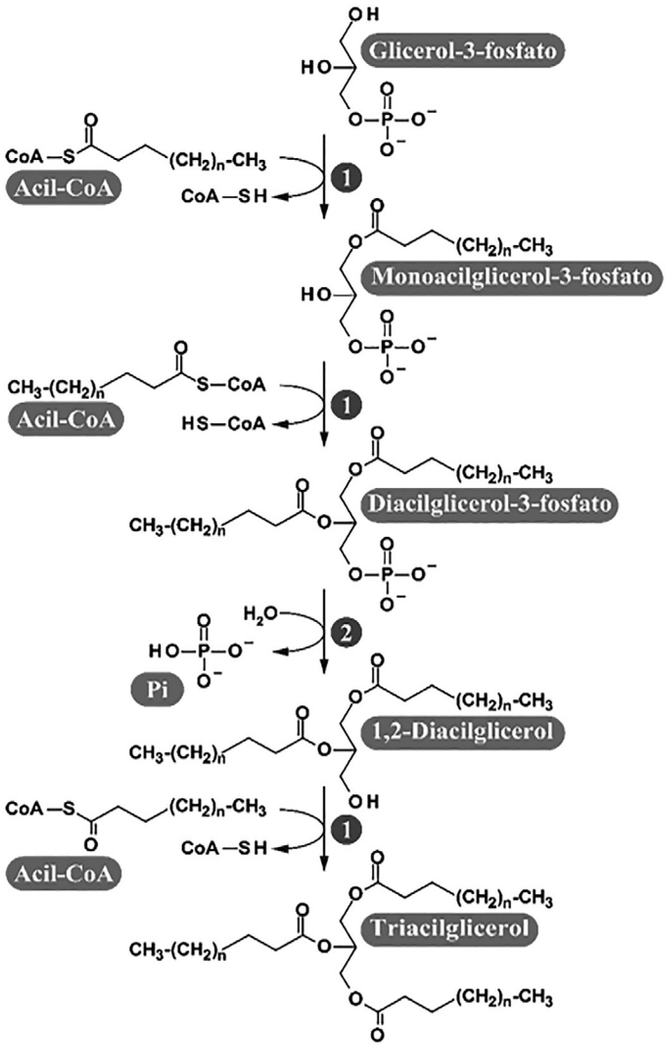


Figura 4.14. Biosíntesis de triglicéridos

Estas reacciones son realizadas en el citosol. El monoacilglicerol-3-fosfato y el diacilglicerol-3-fosfato son también llamados lisofosfatidato y fosfatidato, respectivamente. Las enzimas participantes son: [1] aciltransferasa y [2] fosfatidato fosfatasa. Pi, fosfato inorgánico.

lípidos. Colesterol libre también puede ser liberado con la bilis. La mayor parte del colesterol liberado de esa forma es reabsorbido en el intestino y vuelve a la circulación, retornando al hígado. Los ésteres de colesterol son más hidrofóbicos que el colesterol libre y son transportados en la sangre mediante las lipoproteínas, principalmente LDL y, en menor proporción, HDL y VLDL. La LDL contiene una apoproteína denominada apo B-100, que es reconocida por proteínas receptoras de membrana (receptor LDL) de las células que necesitan colesterol. Brown y Goldstein, en la década de 1980, demostraron que la unión entre la apo B-100 y el receptor LDL es necesaria para que el colesterol pueda entrar en la célula por endocitosis. En el interior de la célula el endosomo, conteniendo ésteres de colesterol, apo B-100 y receptor LDL, se fusiona con lisosomas, donde enzimas hidrolizan los ésteres de colesterol en ácido graso y colesterol libre, y la apo B-100 en aminoácidos. El receptor LDL se recicla y vuelve a la membrana. El colesterol libre puede ser usado por la célula o ser almacenado en gotas citoplasmáticas.

La síntesis del colesterol

El precursor del colesterol es el acetil-CoA, y la ruta de su formación es vía mevalonato. El proceso ocurre en cuatro etapas básicas (**Figuras 4.15A** y **4.15B**).

1. Formación de mevalonato a partir de β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA.
2. Conversión de mevalonato en unidades activas de isopreno y estas en escualeno.
3. Conversión de escualeno en lanosterol.
4. Conversión de lanosterol en colesterol.

La tasa de síntesis del colesterol en el hígado está relacionada con el nivel ingerido en la dieta; la biosíntesis endógena disminuye cuando aumenta el colesterol exógeno. En otros tejidos, la síntesis de colesterol no es inhibida por el colesterol de la dieta. En algunas especies, como la humana, en la cual la síntesis de colesterol hepático no es la mayor fuente, este tipo de control no tiene mucho efecto sobre la síntesis de colesterol total. El punto de control de la síntesis del colesterol es la enzima HMG-CoA reductasa, que cataliza la conversión de HMG-CoA en mevalonato. La enzima es inhibida alostéricamente por el mevalonato y algunos derivados del colesterol, siendo también regulada endocrinamente. La forma activa de la enzima es defosforilada y la inactiva fosforilada. El glucagón estimula la fosforilación, inactivando por tanto la enzima, mientras que la insulina promueve la defosforilación, activando la síntesis de colesterol. Algunas drogas (lovastatina, compactina) son inhibidores de la HMG-CoA reductasa e inhiben la síntesis de colesterol. El colesterol existente en la célula inhibe su propia síntesis.

La mayor parte del colesterol, en la sangre, hígado y córtex adrenal, se encuentra en forma esterificada, mientras que en el músculo la mayor parte del colesterol está libre. El significado biológico de la forma esterificada o libre, en los varios tejidos, no está claro. Es posible que esté relacionado con la estructura de la membrana del tejido en particular. El colesterol en exceso se esterifica y almacena, causando disminución del receptor LDL para evitar la entrada de más colesterol en la célula proveniente de la sangre. El exceso de colesterol en la sangre (colesterol LDL) puede llevar en humanos a la formación de las llamadas placas ateroscleróticas en los vasos sanguíneos, lo cual podría causar su obstrucción (aterosclerosis) y llevar a fallas cardíacas cuando se afectan las arterias coronarias. Existe correlación negativa entre los niveles sanguíneos de la lipoproteína HDL (que contiene menos colesterol) y los problemas arteriales. Problemas genéticos observados en humanos y en porcinos que envuelven fallas en la síntesis del receptor LDL pueden causar mayor concentración del colesterol en la sangre (hipercolesterolemia), debido a que este no puede entrar eficientemente en las células.

Las vacas presentan hipercolesterolemia fisiológica durante la lactación, con mayores niveles asociados de HDL, principal lipoproteína transportadora de colesterol. El mayor nivel de HDL protege a las vacas de los efectos deletéreos de la hipercolesterolemia. Tres posibles hipótesis son lanzadas para explicar el alto nivel de HDL en las vacas lactantes: (1) adaptación a la lactación mediante aumento de la reserva de apo C (principal apoproteína de la HDL); (2) aumento de la utilización de VLDL por la glándula mamaria (lipólisis de componentes convierten la VLDL en HDL); (3) aumento de la síntesis de HDL en el hígado, en respuesta a la lactación. Una importancia práctica de este hecho es que el grado de aumento de HDL, y por tanto de colesterol, en las vacas lactantes, puede ser indicador de la capacidad de la glándula mamaria para producir leche.

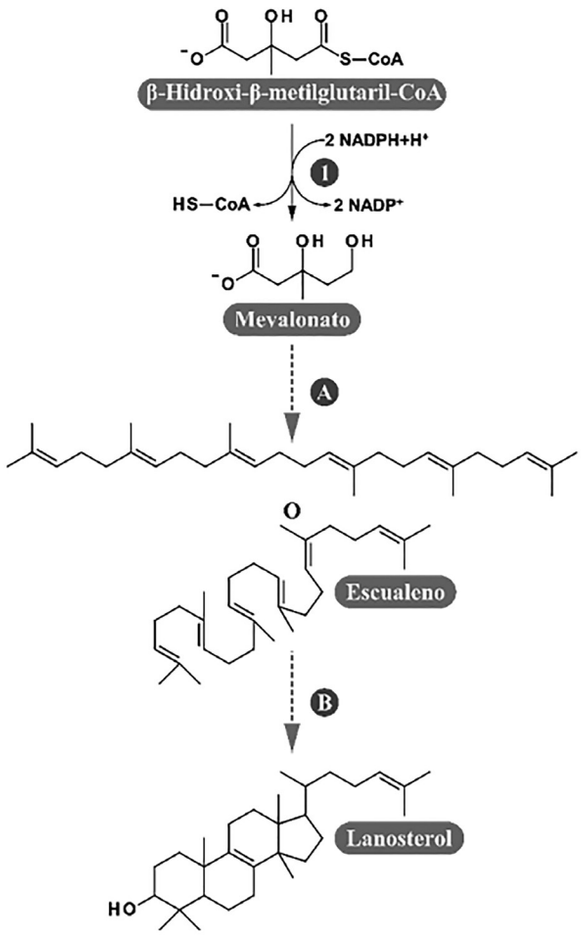


Figura 4.15A. Biosíntesis del colesterol (parte I)

El β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) se sintetiza a partir de tres moléculas de acetil-CoA, como ocurre en la formación de los cuerpos cetónicos (etapas [1] y [2] en la Figura 4.7). Sin embargo, a diferencia de la cetogénesis, que ocurre en el interior de la mitocondria, el HMG-CoA utilizado para la síntesis del colesterol se produce en el citosol. En total, cinco unidades de mevalonato (cada una conteniendo seis átomos de carbono) son necesarias para formar una molécula de escualeno (conteniendo treinta átomos de carbono). [1] β-hidroxi-β-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa). La ruta metabólica [A] comprende siete etapas distintas, mientras que en la ruta [B] son dos etapas hasta la formación del lanosterol.

El colesterol como precursor de las hormonas esteroides

El primer compuesto esteroide que se forma en las gónadas y en el córtex adrenal a partir del colesterol es la pregnenolona, compuesto que genera los demás esteroides. En el córtex adrenal se sintetizan dos tipos de esteroides: los mineralocorticoides (aldosterona el más importante), que controlan la reabsorción de iones (Na^+, Cl^-, HCO_3^-) en los túbulos renales, y los glucocorticoides (cortisol el más importante), que regulan el metabolismo de los glúcidos. En los testículos se sintetizan los andrógenos (testosterona el más importante), que controlan los caracteres sexuales secundarios y la espermatogénesis. En los ovarios y la placenta se sintetizan los estrógenos (estradiol) y la progesterona, que regulan el ciclo reproductivo, la gestación y la lactación en las hembras. La biosíntesis de esas hormonas demanda la remoción de los carbonos de la cadena lateral del colesterol del C-17 en el anillo D y oxidaciones con oxidasas que usan NADPH, O_2 y el citocromo P-450 de la mitocondria.

4.9 Las prostaglandinas

Inicialmente, las prostaglandinas (PG) fueron encontradas en el plasma seminal como secreción de la próstata (de ahí su nombre), pero hoy se sabe que ellas existen prácticamente en todos los tejidos animales. Las prostaglandinas pertenecen a un grupo de compuestos llamados eicosanoides, que incluyen también los tromboxanos y los leucotrienos. Los eicosanoides son sintetizados a partir del ácido araquidónico (C20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$) mediante su ciclación, para formar un anillo ciclopentano y la inclusión de varias insaturaciones. Hay varios tipos de prostaglandinas en la naturaleza, entre las cuales las más importantes son las de los tipos E y F (solubles en éter y en tampón fosfato, respectivamente). Cada grupo se subdivide de acuerdo al número de dobles enlaces en tres subgrupos (E_1, E_2 y E_3; F_1, F_2 y F_3). El número subscrito indica el número de dobles enlaces. Los grupos E y F se diferencian de modo que las PG E tienen un grupo ceto en el C-9 y un hidroxilo en el C-11, mientras que las PG F tienen grupos hidroxilo en ambas posiciones. Existen otras PG llamadas secundarias, producto de deshidrataciones enzimáticas de las PG E, como son las PG A, C, B y D_2 (**Figura 4.16**).

Las prostaglandinas se consideran hormonas, pues son compuestos que ejercen cambios metabólicos, aunque actúan en tejidos cercanos a su lugar de síntesis. Sus acciones biológicas pueden ser muy variadas, actúan siempre a través de un segundo mensajero intracelular (AMP cíclico), en la contracción del miometrio (músculo liso del útero) durante el parto y la menstruación, en la luteólisis (terminación de la actividad del cuerpo lúteo) en varias especies

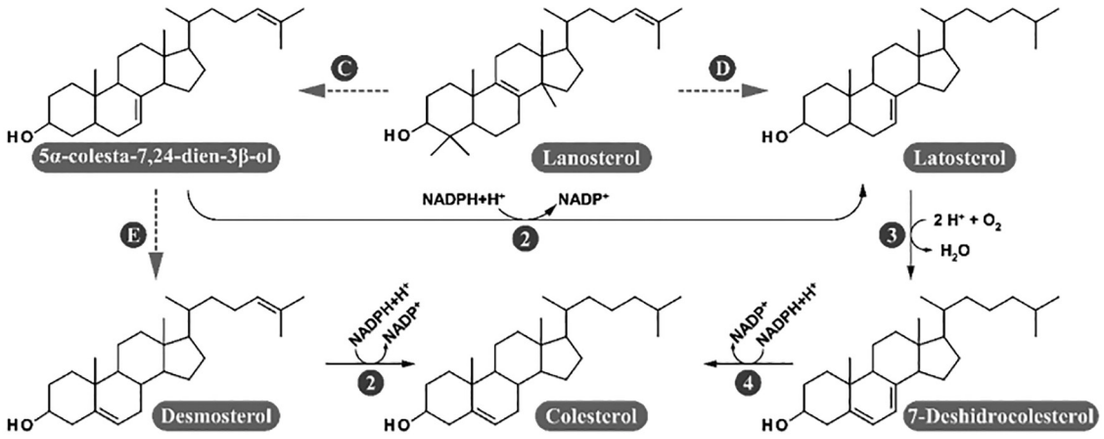


Figura 4-15B. Biosíntesis del colesterol (parte II)

El colesterol puede ser sintetizado a partir del lanosterol por diferentes rutas metabólicas alternativas. Las enzimas participantes son: [2] 24-desidrocolesterol reductasa, [3] latosterol oxidasa y [4] Δ7-esterol reductasa. La ruta metabólica [C] comprende 15 etapas distintas, la ruta [D] 16 etapas y la ruta [E] dos etapas distintas.

animales, en la contracción de las arterias, en los mecanismos de la inflamación y en los movimientos peristálticos, entre otras funciones. Los tromboxanos se encuentran en las plaquetas (trombocitos) y tienen el anillo de ciclopentano interrumpido por un átomo de oxígeno (anillo oxano) y actúan en el mecanismo de la coagulación sanguínea. Los leucotrienos contienen tres dobles enlaces conjugados y poseen varias acciones biológicas, participan en la respuesta inmune y en las reacciones alérgicas.

Biosíntesis de las prostaglandinas

El ácido araquidónico se encuentra esterificado en los fosfoglicéridos de las membranas celulares y puede ser liberado por una fosfolipasa A específica, que se activa por estímulo hormonal o neural. Muchas células del organismo poseen las enzimas que pueden liberar el ácido araquidónico y sintetizar prostaglandinas. El ácido araquidónico libre es convertido, mediante oxidación por incorporación de O_2, en prostaglandina H_2 (PGH_2) compuesto, precursor de las prostaglandinas activas y los tromboxanos. La enzima prostaglandina-endoperóxido sintetasa realiza la oxidación en dos pasos (**Figura 4.16**). Esa enzima puede ser inhibida en forma irreversible por la aspirina (analgésico) y en forma reversible por el ibuprofeno (antinflamatorio) y paracetamol (analgésico). En el caso de la aspirina la inhibición ocurre mediante la acetilación de un residuo de serina en el sitio activo (**Figura 4.17**). Los tromboxanos causan vasoconstricción y agregación plaquetaria y son producidos en las plaquetas o trombocitos por acción de la enzima tromboxano sintetasa. Esas actividades metabólicas también pueden verse disminuidas por causa de las drogas referidas. Otros compuestos de la familia eicosanoide son los leucotrienos, que son producidos en los leucocitos y participan en los procesos de la respuesta inmune, así como a partir del ácido araquidónico, pero toman la llamada vía linear, diferente de la vía cíclica tomada por las prostaglandinas y los tromboxanos. La vía linear no es afectada por las drogas analgésicas y antinflamatorias, pues en ella participa otra enzima no susceptible (lipoxigenasa).

4.10 Trastornos del metabolismo de los lípidos

La mayoría de los trastornos relacionados con el metabolismo de los lípidos tienen relación con el exceso de ingestión de energía (obesidad) o con complicaciones por déficit de energía (cetosis de los rumiantes). En fallas hepáticas graves, concomitantes o no con cetosis, puede haber acúmulo de triglicéridos en el hígado, provocando lipidosis. Menos común en animales son los trastornos de las lipoproteínas. En rumiantes, el ganado lechero al inicio de la lactación y las ovejas y cabras al final de la gestación son los grupos de

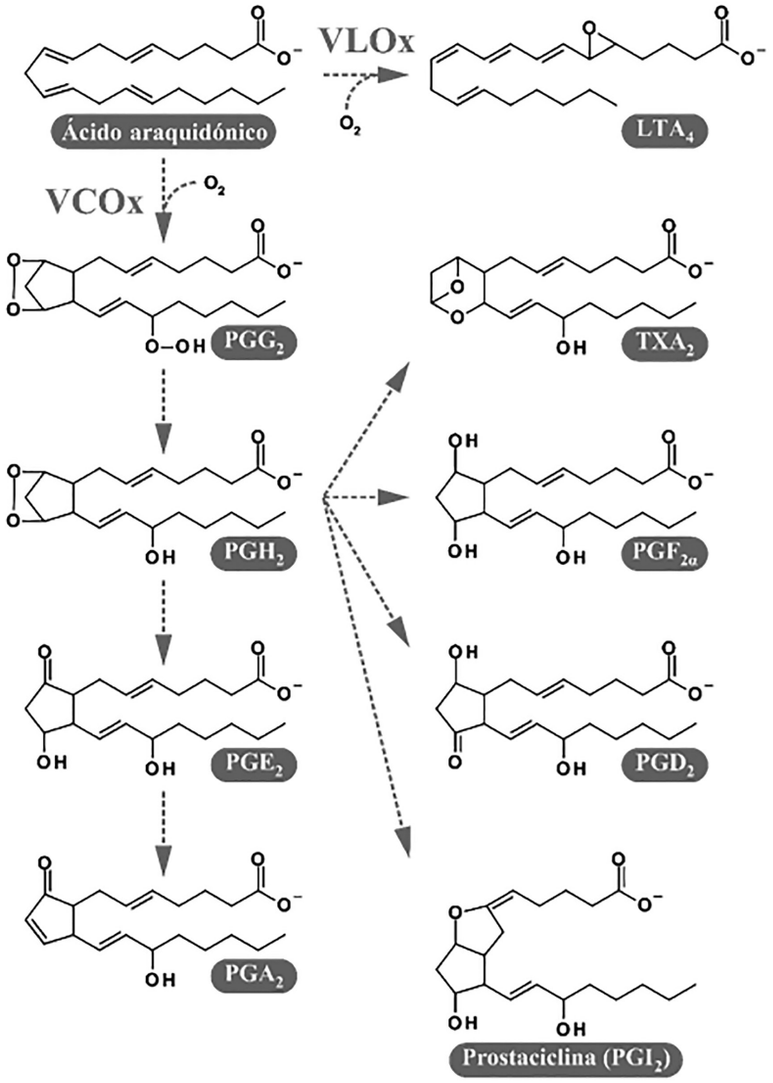


Figura 4.16. Estructura y biosíntesis de prostaglandinas, leucotrienos y prostaciclinas

El ácido araquidónico, precursor en esta ruta metabólica, puede ser proveniente de fosfoglicéridos de membranas celulares, liberados por acción de la fosfolipasa A, o ser derivado del ácido linoleico. VCOx, vía de la ciclooxigenasa; VLOx, vía de la lipooxigenasa; PG, prostaglandina; TX, tromboxano; LT, leucotrieno.

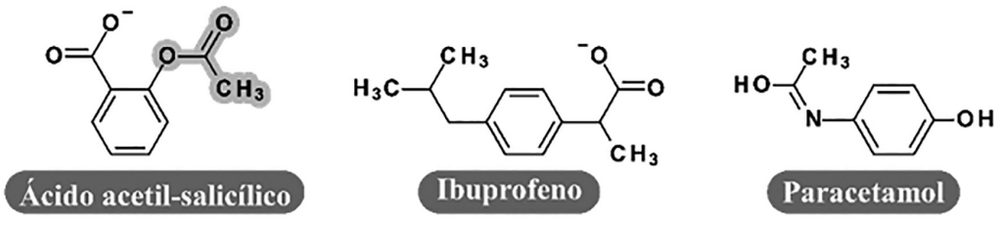


Figura 4.17. Drogas con efecto inhibidor sobre las ciclooxigenasas (COX)

El grupo acetil del ácido acetilsalicílico (aspirina) que puede ser covalentemente unido a un residuo de serina en el sitio activo de las COX (inhibición 'suicida', irreversible) está resaltado en fondo gris. Tanto el ibuprofeno como el paracetamol (acetaminofeno) son inhibidores competitivos (reversibles) de las COX. Sin embargo, el paracetamol no se considera, generalmente, un antiinflamatorio no esteroide (AINE) por tener poca actividad antiinflamatoria, bloqueando el dolor por inhibición de la COX-2 en el sistema nervioso central, sin mucho efecto sobre las COX de otros tejidos y órganos.

animales más propensos a sufrir cetosis espontáneas. Las cetosis están caracterizadas por el aumento anormal de cuerpos cetónicos en la sangre, siendo definidos dos tipos de cetosis en los rumiantes: cetosis de las vacas, que se presenta durante la lactación y responde fácilmente al tratamiento, y toxemia en la gestación de los pequeños rumiantes, fatal por lo general. La obesidad viene afectando pequeños animales (perros y gatos) en función de los hábitos alimentarios, con serias consecuencias para la salud, como la propensión a diabetes mellitus.

Cetosis de las vacas lecheras

La cetosis ha sido reconocida como uno de los más importantes trastornos metabólicos de las vacas lecheras, con consecuencias económicas importantes debido a que se presenta, en la mayoría de los casos, entre la segunda y la séptima semana de lactación, afectando no solamente la producción, sino también la reactivación ovárica. Es causada por el aumento de las concentraciones de cuerpos cetónicos en los tejidos y líquidos corpóreos en niveles tóxicos para el organismo. En situaciones crónicas de falta de sustrato energético (glucosa o sus precursores) el organismo utiliza la oxidación de los ácidos grasos como fuente para suplir las demandas de energía, sobrecargando el tejido hepático. El aumento de la β-oxidación de los ácidos grasos (AG) en los hepatocitos genera un excedente de acetil-CoA que es transformado en cuerpos cetónicos, los cuales son liberados en la corriente circulatoria y, su exceso en los tejidos, ocasiona daños en la salud animal.

Etiología

La mayor ocurrencia de cetosis en los bovinos es durante el periodo de transición en vacas lecheras, o sea, entre el último mes de gestación y las primeras semanas de lactación. En esta etapa hay aumento significativo en la demanda energética asociado a disminución de la ingesta de materia seca, lo cual provoca un balance energético negativo. Vacas de alta producción son con frecuencia acometidas por este trastorno debido al gran volumen de nutrientes requeridos diariamente para la producción de leche. Una vaca con producción aproximada de 30 kg/día de leche secreta aproximadamente 1,0 kg de proteína, 1,0 kg de grasa y 1,5 kg de lactosa. El nivel de producción parece ser un factor de riesgo para el desarrollo de cetosis, pues no siempre la selección genética para vacas de alta producción viene acompañada con aumento de la eficiencia en la conversión alimentaria. La falla determinante en la cetosis ocurre en el metabolismo de los glúcidos y los lípidos. La falta del principal precursor gliconeogénico, el propionato, ocasiona una hipoglicemia que lleva a excesiva transformación de triglicéridos en ácidos grasos libres para producir energía, vía beta-oxidación, lo cual lleva a la presencia de gran cantidad de acetil-CoA que supera la capacidad de utilización en el ciclo de Krebs, aumentando las demandas de oxalacetato. El resultado es el acúmulo de cuerpos cetónicos (beta-hidroxibutirato, acetoacetato y acetona), dando un cuadro clínico de acetonemia y acetonuria. Desde el inicio de la lactación hasta el pico de producción de leche la vaca requiere grandes cantidades de glucosa para sus necesidades metabólicas y la síntesis de lactosa. El efecto hormonal sobre la glándula mamaria mantiene la producción de leche, de forma que los requerimientos energéticos son completados a expensas de las reservas corporales.

En las vacas lecheras la tasa de prevalencia de cetosis clínica está entre 3% - 7%, mientras que la forma subclínica está en torno de 25% y puede llegar a 34%. En la mayoría de los casos el trastorno es observado en los primeros sesenta días de lactación, especialmente entre los diez y veintiocho días, siendo las vacas primíparas menos susceptibles que las pluríparas. Se reconocen al menos tres síndromes de cetosis bovina: cetosis por subconsumo (tipo I), cetosis espontánea (tipo II) y toxicosis butírica (**Tabla 4.4**).

En la cetosis por subconsumo el animal no recibe cantidad suficiente de calorías para atender la demanda de glucosa por la glándula mamaria. Esta deficiencia calórica puede ser nutricional, en la cual el animal presenta apetito normal, aunque con balance energético negativo, o secundaria, causada por enfermedades que provoquen anorexia, tales como hipocalcemia, metritis y mastitis. En este tipo de cetosis las vacas de alta producción dirigen la energía para la producción de leche y no consiguen mantener el ritmo de demanda de energía, por la deficiencia nutricional. Se incluyen en este tipo de cetosis vacas que no tuvieron dificultades en el periodo preparto ni en el parto, comenzando la lactación con buena productividad. Pueden hacer glucosa de forma efectiva a partir de precursores, sobre todo propionato del rumen y aminoácidos de las reservas proteicas (albúmina y músculo). El factor limitante en

este caso es la provisión de los precursores de glucosa. Pueden ser destacadas como causas dietas ricas en proteína y bajas en energía durante el periodo seco. Las concentraciones de acetato en la sangre pueden estar muy altas y las concentraciones de glucosa e insulina muy bajas. Vacas acometidas por cetosis de tipo I responden bien a los tratamientos.

La cetosis espontánea (tipo II) es la más común y más investigada de las cetosis, pero las causas y los mecanismos envueltos son los menos comprendidos. Este tipo de cetosis es más frecuente en vacas lecheras en las cuales la demanda de glucosa por parte de la glándula mamaria para producir lactosa provoca un verdadero drenaje de glucosa sanguínea, provocando el desarrollo de un cuadro similar a la cetosis por subconsumo. Aparentemente, la cetosis tipo II está relacionada con la obesidad en vacas lecheras. Su patogenia se basa en los mecanismos de regulación hormonal, con disminución de los receptores de membrana para insulina: o con aumento de la resistencia a la insulina en los tejidos diferentes a la glándula mamaria. Los animales en esta condición tienden a movilizar rápidamente mayor cantidad de grasa bajo condiciones de balance energético negativo. Las concentraciones de insulina y glucosa en la sangre están altas, aunque solo temporalmente. Esta resistencia a la insulina provoca graves consecuencias, ya que la vaca enfrenta una crisis de energía al inicio de la lactación y necesita pasar glucosa al interior celular. La cetosis espontánea ocurre en vacas lecheras de alta producción y no viene acompañada de acidosis severa. Con frecuencia la recuperación también es espontánea, aunque con gran pérdida de producción de leche. El cuadro se caracteriza por anorexia, depresión, acetonemia, acetonuria, acetolactia, hipoglicemia y disminución de la producción láctea. La causa del disturbio de acuerdo a la 'teoría hipoglucémica' sería una baja en la concentración de glucosa sanguínea, que ocurriría aun en animales bien alimentados. La agresividad metabólica de la glándula mamaria, en vacas altamente seleccionadas para producción lechera, causaría la pérdida de grandes cantidades de glucosa de la sangre sin que el hígado pueda responder con gluconeogénesis en suficiente cantidad. La hipoglicemia sería seguida de una lipólisis con acetonemia, contribuyendo para que el animal disminuya el consumo de alimento. Con eso, se precipitaría la aparición de una cetosis similar a la de subnutrición, ocurriendo disminución de insulina, aumento de glucagón y, finalmente, exceso de AGL y de cuerpos cetónicos.

Tabla 4.4 Características de los tipos de cetosis en las vacas

Característica	Tipos de cetosis		
	Tipo I	Tipo II	Butírica
Descripción	subnutrición, espontánea	vaca gorda, hígado gordo	ensilaje con butirato
BHB	↑↑	↑	↑
AGL	↑	↑	○ ↑
Glucosa	↓	↑	↕
Insulina	↓	↑	↕
Estatus de la insulina	dependiente	resistente	↕
Condición corporal	↓	↑	↕
Gluconeogénesis	↑	↓	↕
Patología hepática	○	lipidosis	↕
Período de riesgo (semanas de lactación)	3 a 6	1 a 2	↕
Pronóstico	bueno	desfavorable	↕

BHB: beta-hidroxibutirato, AGL: ácidos grasos libres

↑↑ muy alto; ↑ alto; ↓ bajo; ↕ variable; ○ sin alteración

Por otro lado, existen evidencias de que las vacas pueden presentar acetonemia sin sufrir hipoglicemia, sugiriendo la 'teoría lipolítica'. Esta teoría postula que debe haber una señal lipolítica causadora de hidrólisis de triglicéridos para suplir las demandas de AGL en la glándula mamaria, con control independiente de la concentración de glucosa sanguínea. Es frecuente observar esta situación metabólica en la cetosis subclínica, donde se observa normoglicemia asociada al aumento de AGL y de cuerpos cetónicos. De acuerdo con la teoría lipolítica, la lipólisis endógena y la cetosis espontánea podrían ser prevenidas por la suplementación con triglicéridos 'protegidos'. Esta 'protección' se refiere a la cobertura de esos triglicéridos con proteínas tratadas con formaldehído, evitando su degradación ruminal y haciendo que sean absorbidos en el intestino delgado y transportados por los quilomicrones hasta la glándula mamaria.

Entre los factores predisponentes de la cetosis bovina pueden ser citados: periodo seco muy prolongado, vacas con sobrepeso en el periodo posparto, ocurrencia concomitante de fiebre de leche, retención de placenta e hipomagnesemia. No ha sido observada predisposición hereditaria. También son postuladas como posibles causas metabólicas predisponentes a la cetosis bovina, la falla en la secreción de glucocorticoides y la deficiencia nutricional de azufre y cobalto. La falla en la secreción de glucocorticoides limitaría la capacidad del animal para adaptarse al estrés nutricional. La deficiencia mineral limitaría la utilización de glúcidos, especialmente por deficiencia de coenzima A, coenzima B_{12} y otros cofactores o coenzimas.

La toxicosis butírica o cetosis alimentaria ocurre cuando el ganado se alimenta con heno mal conservado, en descomposición, que contenga altas cantidades de ácido butírico, el cual puede ser fuente de beta-hidroxibutirato y acetoacetato en el rumen.

Pérdidas económicas en la cetosis

Un estudio epidemiológico realizado en Finlandia, utilizando datos de 23.416 vacas en lactación, demostró que la baja en la producción de leche generalmente ocurre entre la segunda y la cuarta semana después del diagnóstico de cetosis, continuando por un periodo variable. En ese trabajo se observó que la disminución en la producción de leche como consecuencia de la cetosis clínica puede llegar a 5,3 kg/día, con pérdidas superiores a 353 kg por vaca a lo largo de una lactación. Sin embargo, algunos estudios epidemiológicos destacan que vacas que desarrollaron cetosis por lo general poseen niveles productivos superiores al promedio del rebaño y que, aun acometidas por el disturbio, producen más a lo largo de una lactación. Además de los prejuicios directos con la cetosis subclínica, animales con altos niveles de cuerpos cetónicos son más propensos a desarrollar desplazamiento de abomaso.

Disturbios metabólicos en la cetosis

El acetato (dos carbonos) es metabolizado principalmente para síntesis de grasa. El butirato (cuatro carbonos) sufre hidroxilación en la pared del rumen y es el principal responsable de la producción de cuerpos cetónicos en condiciones normales. En el hígado el acetil-CoA es condensado a acetoacetil-CoA, que puede ser convertido en acetoacetato, acetona y β-hidroxibutirato, formando los llamados cuerpos cetónicos, o ser transformado de nuevo en acetil CoA y aprovechado en el ciclo de Krebs. El propionato (tres carbonos) es la principal fuente de glucosa en el rumiante, siendo metabolizado a través del ciclo de Krebs. En el rumen la relación de AGV cetogénicos (acetato y butirato) y AGV glucogénico (propionato) es de 4:1 en condiciones de dieta de forraje.

Los niveles de glucosa en los rumiantes son bajos (40-60 mg/dL) comparados con los monogástricos, pues su metabolismo está basado en la conversión de los AGV en energía. Este factor es determinante, cuando al final de la gestación e inicio de la lactación la demanda de glucosa está aumentada en 30% y 75% respectivamente. El crecimiento final del feto, la producción de calostro y el pico de lactación, sumados a la disminución de la ingestión de materia seca en estos periodos, pueden provocar un balance energético negativo, en el cual la cantidad de nutrientes necesarios para mantenimiento y producción es mucho mayor que la de ingestión. En la lactación existe una súbita exigencia de aumento de la producción de nutrientes por el inicio de la lactación que no es suplida por el consumo de materia seca y el organismo utiliza rutas catabólicas de reservas energéticas para mantener la homeostasis, iniciando por la utilización de las reservas de glucógeno y posteriormente mediante la oxidación de los ácidos grasos que lleva a una saturación de la capacidad hepática de utilizarlos y termina en la producción elevada de cuerpos cetónicos. En vacas

lecheras de alta producción, al inicio de la lactación, gran parte del propionato producido por el rumen es llevado a la glándula mamaria para la producción de lactosa. Este es el principal factor desencadenante de cetosis en esta categoría animal.

En el ciclo de Krebs la principal sustancia que regula su velocidad es el oxalacetato. En el rumiante el propionato entra directamente al ciclo a través del succinil-CoA, siendo así precursor de oxalacetato. Como el propionato que está siendo producido en el rumen, en un periodo de bajo consumo de materia seca, es en gran parte desviado para producción de lactosa por la glándula mamaria, ocurre una disminución de los niveles de oxalacetato en la mitocondria por la falta de sus precursores. Además, las concentraciones de acetil-CoA mitocondrial, punto de partida para el ciclo de Krebs, estarán reducidas, una vez que la principal vía de producción de acetil-CoA es la glicólisis. Por consecuencia, hay disminución en la velocidad del ciclo de Krebs por la falta de acetil-CoA y de oxalacetato. Cuando esto ocurre, la falta de energía en el hígado desencadena nuevas rutas para gluconeogénesis. La menor disponibilidad de glucosa del intestino y de la gluconeogénesis hepática causa hipoglicemia con la debida respuesta por parte del páncreas, liberando glucagón y disminuyendo la secreción de insulina. El glucagón provoca aumento de cAMP en el tejido adiposo, activando la lipasa hormona-sensible, la cual hidroliza triglicéridos y libera ácidos grasos libres (AGL) y glicerol en la sangre. Los AGL son utilizados por los tejidos para producir energía vía beta-oxidación, siendo también captados por el hígado. La β-oxidación tiene como producto acetil-CoA, que por la baja concentración de oxalacetato y disminución del ciclo de Krebs se acumula en la mitocondria, siendo desviado para la síntesis de cuerpos cetónicos. Si esta condición se mantiene por un periodo prolongado puede ocurrir cetosis y acúmulo de AGL en diferentes tejidos, incluyendo el hígado y las células musculares. Los cuerpos cetónicos formados en el tejido hepático son acetoacetato, acetona y β-hidroxibutirato. La síntesis de los cuerpos cetónicos obedece esta orden, siendo el acetoacetato el primero que se produce en la cetogénesis hepática, y rápidamente es descarboxilado formando la acetona, que es altamente volátil (**Figura 4.7**). Esto determina que acetona y acetoacetato no puedan ser usados como marcadores para determinar los niveles de cuerpos cetónicos. El β-hidroxibutirato es resultado de la oxidación del butirato y su producción es controlada por la enzima 3-hidroxibutirato deshidrogenasa, proceso dependiente de la relación NAD^+ / NADH. Debido a su mayor estabilidad en la sangre y disponibilidad de kit comercial, se utiliza el β-hidroxibutirato (BHB) para evaluar los niveles séricos de cuerpos cetónicos.

Las principales manifestaciones bioquímicas de la cetosis son la hipoglicemia, el bajo nivel de glucógeno hepático, la acetonemia, la acetonuria y el aumento del nivel plasmático de ácidos grasos libres. La severidad del disturbio es proporcional al grado de hipoglicemia y acetonemia. La caída del nivel de glucosa puede afectar la función cerebral, que también podría estar comprometida por el ácido isopropílico, producto del catabolismo del acetoacetato. La glicemia puede bajar a menos de 40 mg/dL. Son considerados referenciales valores de BHB abajo de 1,0 mmol/L, mientras que valores por encima de 1,2 mmol/L se consideran como cetosis subclínica. Los cuerpos cetónicos en la orina pueden alcanzar niveles de hasta 1,3 mmol/L (referencia: menos de 0,7 mmol/L). En la leche los cuerpos cetónicos pueden llegar a 4,0 mmol/L (referencia: 0,3 mmol/L). Los niveles de ácidos grasos libres están aumentados en la sangre, siendo indicadores del grado de lipólisis.

Los cuerpos cetónicos pueden ser utilizados por los tejidos extrahepáticos, en especial corazón y riñones. Otros tejidos son bastante dependientes de glucosa, sobre todo el cerebro en oveja, cerdo y perro. Al contrario de los ácidos grasos, que deben ser transportados unidos a albúmina, los cuerpos cetónicos son bastante solubles en el plasma, no requiriendo proteínas transportadoras. En el ayuno prolongado disminuye la concentración de albúmina plasmática, por tanto, es menor la cantidad de AGL transportados. El exceso de AGL en el plasma tiene efecto tóxico. Si la capacidad de la albúmina de transportar AGL es excedida, los AGL en el plasma pueden tener una acción detergente, damnificando las membranas de las células endoteliales y contribuyendo a la formación de placas ateroscleróticas. También se relaciona el exceso de AGL circulantes con efectos deletéreos en la competencia inmunológica del animal. La cetogénesis en ayuno o en la deficiencia energética debe ser vista como un mecanismo de sobrevivencia para los tejidos periféricos, y no como una carga aplicada por el hígado al resto del organismo. Cualquier condición que cause anorexia vendrá acompañada de aumento de cuerpos cetónicos en los fluidos corporales. En todos los tipos

de cetosis ocurre acidosis metabólica, casos en que el bicarbonato sanguíneo puede bajar a niveles menores de 10 mM (referencia: 18 a 25 mM) y el pH a menos de 7,2 (referencia: 7,35-7,45).

Señales clínicas de la cetosis bovina

La forma subclínica de presentación de cetosis es la más frecuente, primordialmente en animales que pierden más del 20 % de su peso vivo en las primeras semanas posparto, o que son alimentados con exceso de proteína (pastos nuevos, *ryegrass*) o con valores de fibra inferiores a 18 %. El animal pierde apetito, permanece con el dorso curvado, la piel tiene apariencia reseca y la producción de leche cae. Las complicaciones de la forma subclínica son de gran importancia económica, pues afecta la reproducción al causar alteración en el ciclo estral, anestro, quistes ovarianos, muerte embrionaria, baja secreción de progesterona, abortos, momificación fetal, atonía uterina y retención de placenta. La forma subclínica puede llevar a una emaciación grave, con severa lesión hepática de pronóstico desfavorable. En esa situación es característica la elevación de las transaminasas y la presencia de heces líquidas e inodoras.

La cetosis clínica en vacas lecheras generalmente se manifiesta como un síndrome debilitante, con pérdida gradual de apetito, en que disminuye primero la ingesta de concentrado, seguida del ensilaje y los forrajes. La menor producción de leche acompaña la disminución de ingesta y los animales sufren una drástica pérdida de condición corporal, en consecuencia, de la gran movilización de grasa corporal para suplir la demanda de energía. Las señales vitales por lo general están normales, si bien es perceptible un fuerte olor cetónico primero en la respiración y más tarde en la orina y la leche. Al comienzo los movimientos ruminales disminuyen y, con la evolución del disturbio, pueden estar ausentes. En la forma digestiva o debilitante, que corresponde al 86 % de los casos, ocurre pérdida gradual del apetito, indigestión, diarrea, disminución de la producción de leche y del peso corporal, agotamiento, pérdida de condición corporal, menos consumo de agua, atonía ruminal, constipación, heces duras, fétidas y con vestigios de sangre, pérdida de elasticidad de la piel por desaparecimiento de la grasa subcutánea, depresión y letargo con decúbito en casos severos. Ocasionalmente, en los casos avanzados, los cuerpos cetónicos producen olor acético a la piel, la leche, la orina y el hálito. En general no es una enfermedad mortal y la recuperación es espontánea; empero, si no es tratada, la recuperación será muy lenta y las pérdidas de producción lechera serán significativas. En la forma nerviosa, menos común, ocurre una sintomatología que recuerda la rabia bovina; el animal presenta cambios de comportamiento, realiza movimientos circulares, mastica sin contenido, sufre alteraciones de la visión, saliva de forma profusa, tiene comportamiento agresivo, lambe la piel u otros objetos, sufre caídas frecuentes, empuja superficies (paredes, establo, árboles), hay hiperestesia, temblores e incoordinación motora. Estas alteraciones ocurren por irritación del tejido nervioso. Con el avance del cuadro sin tratamiento la forma nerviosa termina en depresión acentuada. Señales nerviosas son menos comunes, y cuando se observan son indicios de un cuadro avanzado. Las señales clínicas nerviosas pueden desaparecer espontáneamente si el balance energético positivo se restablece.

En vacas de carne gestantes las señales clínicas se caracterizan, inicialmente, por hiperexcitabilidad, agresividad y actitud de alerta. Se observan también temblores musculares e incoordinación con ataxia de los miembros posteriores. Los animales se levantan y tumban constantemente, y hacen movimientos con la cabeza. Puede ser observado ptialismo, disnea, corrimiento nasal seroso, disminución de los movimientos ruminales y presencia de heces secas. Algunos animales pueden presentar fiebre. En estados más avanzados los temblores musculares se extienden a todo el cuerpo, sobre todo a la cabeza, llevando a decúbito y a convulsiones tonicoclónicas. Están presentes salivación, contracciones clónicas de los músculos cervicales, causando dorso-flexión o desvío lateral de la cabeza y andar en círculos. Los animales permanecen echados después de las convulsiones y levantarse posteriormente asumiendo una posición característica de 'mirar a las estrellas'. Cuando intentan andar presentan incoordinación y se vuelven a caer. Los animales más afectados permanecen en decúbito por tres-cuatro días después de iniciadas las señales clínicas y se mantienen en profunda depresión hasta la muerte. El curso clínico puede variar entre 2-7 días y es rápido en los animales muy gordos.

Estudios en vacas lecheras y también en ovejas y cabras inducidas experimentalmente, sugieren que parte de las señales nerviosas (depresión, tambaleo, ceguera, midriasis, etc.) verificadas en la acetonemia, pueden ser debidas a la acción del isopropanol,

generado por descarboxilación principalmente del beta-hidroxibutirato, que produciría un efecto tóxico en el córtex cerebral.

Diagnóstico de la cetosis

El diagnóstico clínico toma en cuenta las señales clínicas, la época de presentación y el volumen de producción lechera. La concentración de cuerpos cetónicos aumenta en la sangre y la orina. Concomitantemente, los valores de glicemia están bajos y los de urea elevados. La AST y la GGT tienen actividad plasmática aumentada, lo cual sugiere daño hepático. La asociación de hipoglucemia y acetonemia en el plasma constituye un buen elemento predictivo de la situación. El pronóstico depende de la severidad de las señales y del grado de acetonemia. En casos leves, un cambio en la alimentación puede revertir las señales en diez días de iniciado el tratamiento. En casos graves se puede considerar la posibilidad de cetosis secundaria a otro proceso patológico, como reticuloperitonitis traumática, desplazamiento de abomaso, pielonefritis, retención de placenta, hipocalcemia, endometritis y distomatosis. Debido a las pérdidas económicas ocasionadas por la cetosis subclínica, es ideal detectar y tratar las vacas que poseen niveles de BHB sérico igual o mayor a 1,4 mmol/L. En la práctica se utiliza, para identificar a las vacas con ese trastorno, los niveles de cuerpos cetónicos en la leche a través de tiras reactivas como *Ketolac test strip*, *Ketocheck powder*, *Bioketone powder* y *Ketostix strip*. Hoy día existen también aparatos electrónicos portátiles para medición de BHB en sangre, orina o leche (FreeStyle Optium y KetoVet).

Tratamiento de la cetosis

Las vacas, antes del parto, deben estar en condición corporal 3,5 (escala de 1 = delgada, 5 = obesa) y evitar cambios bruscos en la alimentación del periparto. El contenido de proteína ha de ser moderado, el forraje palatable y con buen nivel de fibra (mínimo 18 %). La alimentación requiere incluir sustratos que propicien la formación de ácido propiónico como heno de alfalfa o de maíz. En animales con tendencia genética a sufrir de este trastorno se recomienda el uso preventivo de propionato sódico o de propilenglicol, además de un buen suministro de cobalto, yodo y fósforo. El tratamiento por lo general es sintomático, tratando de revertir el cuadro hipoglucémico con elevada administración de glucosa vía endovenosa (500 mL de solución de glucosa a 50 %), renovación del fluido ruminal y tranquilizantes en casos de excitación. La glucosa vía oral debe ser evitada, pues rápidamente es fermentada en el rumen, produciendo precursores cetogénicos, lo que agravaría el problema. El tratamiento en la cetosis precisa tener como objetivo primario la elevación de los niveles de oxalacetato para, con eso, aumentar la gluconeogénesis. Esto puede conseguirse mediante infusión oral de propilenglicol o de glicerol mediante sonda ruminal (450 g/día, dividido en dos dosis, por dos días, seguido de 110 g/día por dos días más). Propionato de sodio (110 a 225 g/día) también puede ser suministrado con el alimento. Además se pueden administrar glucocorticoides para mantener la glicemia por más tiempo (ocho-diez horas), pues el tratamiento endovenoso con glucosa mantiene la glicemia durante apenas dos a tres horas. Los niveles elevados de glicemia consiguen estimular el apetito, lo que, a su vez, favorece el restablecimiento de la glicemia. La homeostasis debe conseguirse en cuatro o cinco días. Inyecciones de 10 mg de dexametasona producen hiperglucemia por cuatro-seis días. El tratamiento con glucocorticoides causa disminución de la producción de leche, favoreciendo la recuperación. Anabolizantes no esteroides, como el trenbolone (60 mg), también han sido efectivos. Asimismo, puede ser administrada insulina (250 UI, repetida a intervalos de 24-48 h) con base en su propiedad antilipolítica, acompañada de glucosa. Otra posibilidad es el suministro de fósforo orgánico, que aumenta la ingestión de materia seca por disminuir los niveles de β-hidroxibutirato y AGL, favoreciendo así la reversión del cuadro clínico de cetosis.

Profilaxis de la cetosis

El control de la cetosis está integralmente relacionado con la nutrición adecuada de la vaca durante el periodo seco y la lactación. Deben ser evitadas las condiciones predisponentes a este trastorno metabólico. Las vacas han de llegar al parto con un *score* corporal aproximado de 3,5 (escala de 1 a 5), o sea, no estar ni muy delgadas ni muy gordas. Es recomendable que las vacas sean evaluadas cuatro semanas antes del parto para que los ajustes pertinentes en la alimentación sean efectuados. Vacas de alta producción requieren ser observadas con atención, en especial si padecieron antes de cetosis, y deben tener su peso y alimentación controlados en los meses finales de la gestación. El uso profiláctico

de compuestos que aumenten la concentración de propionato ruminal ha dado buenos resultados. Con esta finalidad pueden ser utilizados, iniciando el día del parto, propionato de sodio (110 g/día, por seis semanas) o propilenglicol (350 mL/día, por diez días). Ionóforos como la monensina contribuyen a aumentar la relación propionato/acetato en el rumen, además de reducir el contenido de grasa en la leche, evitando así mayores pérdidas energéticas. El uso del perfil metabólico es de utilidad en la prevención de la cetosis. Niveles de glucosa sanguínea menores de 40 mg/dL en vacas lecheras con dos a seis semanas de lactación constituyen señal de alarma. Niveles de beta-hidroxibutirato sanguíneo mayores de 10 mg/dL son indicativos de cetosis subclínica. Es útil, también, que pruebas de detección de cuerpos cetónicos en la orina o en la leche sean hechos a partir de la segunda semana de gestación. Una posibilidad en vacas con balance energético negativo, considerando la practicidad en la rutina, es el uso del llamado Drench, que se refiere a soluciones suministradas vía sonda ororuminal, con la siguiente posible composición:

20 L de agua a 37 ºC
150 mL de propilenglicol
100 g de cloruro de potasio
220 g de fosfato de sodio
100 g de bicarbonato de sodio

El propilenglicol puede ser utilizado tanto en la prevención como en el tratamiento de la cetosis. Su fermentación en el rumen origina grandes cantidades de propionato y glicerol, lo que explica sus efectos en el aumento de los niveles séricos de glucosa e insulina y disminución de los AGL y de β-hidroxibutirato en vacas al inicio de lactación. Rara vez son observados efectos colaterales, pero puede haber salivación, hiperventilación y depresión, especialmente cuando se usan altas dosis. Tiene la ventaja de no alterar el pH ruminal cuando se administran hasta 688 g/día en el concentrado; empero, si la dosis excede 500 g/día puede causar disminución del consumo de materia seca por afectar la palatabilidad del concentrado, causar toxicidad a la flora ruminal o por oxidación parcial del propionato en el hígado cuando el animal ya ha suplido sus necesidades energéticas.

Los ionóforos son compuestos de poliéster producidos a partir de especies de *Streptomyces* sp, que cuando son adicionados a la dieta de rumiantes actúan de forma selectiva en la flora ruminal llevando a la disminución de la multiplicación, e incluso a la muerte de microorganismos Gram positivos. En casos en que se usan dosis muy elevadas pueden causar también inhibición y mortalidad de hongos y protozoarios ruminales y de microorganismos Gram negativos. El principal ionóforo es la monensina, la cual reduce la metanogénesis ruminal por desviar átomos de C y H^+ para otros compuestos diferentes al metano (CH_4). La redirección de este flujo de C y H^+ lleva a mayor producción de propionato, aumentando la eficiencia energética de la dieta en hasta 4 %. La administración de 15 a 30 mg de monensina por kg de la dieta en el periparto favorece la disminución de la cetogénesis y aumenta los niveles de glucosa sanguíneos.

La niacina es necesaria para la síntesis de los compuestos NAD^+ y $NADP^+$, coenzimas esenciales en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. La niacina es sintetizada por los microorganismos del rumen, pero luego que fue descubierto su efecto reductor de la lipólisis y de disminuir el flujo de ácidos grasos libres en la sangre de ratas y humanos, esta vitamina pasó a ser incorporada a la dieta de vacas de leche en el periparto. La dosis recomendada para la prevención de cetosis y esteatosis hepática es de 6 a 12 g/día para vacas en el preparto e inicio de la lactación.

La deficiencia de colina puede afectar la formación de fosfolípidos necesarios para la estructuración de las lipoproteínas esenciales en el transporte de los triglicéridos. En monogástricos la deficiencia de colina cursa con lipidosis hepática debido a la incapacidad del hepatocito en sintetizar los fosfolípidos necesarios para el transporte de triglicéridos. En rumiantes la colina es sintetizada por la microflora del rumen. Sin embargo, el motivo por el que se preconiza su suplementación se basa en la hipótesis de que las vacas al final de la gestación disminuyen el consumo de materia seca al tiempo que aumentan la demanda de proteína para la síntesis de leche y de calostro. Esta demanda muchas veces no consigue ser suplida y en consecuencia hay falta de sustrato para la síntesis de colina. A fin de que la suplementación con colina sea efectiva es necesario administrarla en forma protegida, que escape de la degradación en el rumen. En el periparto la dosis recomendada es de 15 a 20 g/día.

Cetosis de los pequeños rumiantes

Etiología

También llamada toxemia de la gestación, la cetosis es frecuente en ovejas y cabras con gestación gemelar que son sometidas a privación energética y/o a estrés. La causa determinante de la toxemia de la gestación es una deficiencia de energía en la dieta, exacerbada por el aumento de la demanda energética en la parte final de la gestación. Está caracterizada por depresión, debilidad, hipoglicemia, acetonemia, acetonuria, acidosis que puede ser severa, deposición de grasa en el hígado y, sin tratamiento, puede conducir a coma y muerte. En ovejas el nivel de cortisol plasmático puede aumentar por encima de 10 ng/mL, siendo usado como indicador de la toxemia, junto con la hipoglicemia y la acetonemia.

Los fetos son completamente dependientes de glucosa para la producción de energía. La placenta ovina y caprina tiene poca permeabilidad para los cuerpos cetónicos. Los niveles de glucosa sanguínea en los fetos son bajos con relación a los niveles maternos (11 vs. 50 mg/dL). Además, el glúcido más abundante en la sangre fetal es la fructosa, sintetizada a partir de la glucosa. Así, se forma un gradiente de glucosa entre las sangres materna y fetal, permitiendo un flujo continuo de glucosa para el feto.

En los pequeños rumiantes la toxemia de la gestación ocurre más en sistemas de producción intensiva. En sistemas de producción extensiva no es común, a menos que ocurra un mal manejo alimentario. Es un trastorno de ocurrencia exclusiva en hembras gestantes, especialmente durante el último mes de gestación y en casos de dos o más fetos. También puede ocurrir en gestaciones simples con fetos grandes. La prevalencia de este disturbio puede llegar a 20 % en rebaños ovinos y caprinos. Aunque no exista una susceptibilidad identificada en razas, las ovejas de origen inglés son consideradas más resistentes; sin embargo esa resistencia al disturbio puede tener como consecuencia menor peso del cordero al nacimiento, llevando a un aumento de la mortalidad perinatal. Existe mucha variación para la predisposición a la cetosis entre los ovinos, dependiendo de la eficiencia metabólica del hígado. La forma más común de la toxemia es la primaria, o sea, deficiencia nutricional en el tercio final de la gestación, en especial cuando se asocia a procedimientos de manejo, tales como transporte, limpieza, esquila y desparasitación, cambios en la alimentación y frío excesivo. En ovejas con sobrepeso puede ocurrir baja en el consumo por reducción del volumen ruminal debido a la presión, tanto del feto como de la grasa intraabdominal. La forma secundaria ocurre por enfermedad intercurrente, como *footrot* e infestación parasitaria, causando baja del consumo de alimentos o gran drenaje de energía.

Señales clínicas de la cetosis de los pequeños rumiantes

Las señales clínicas de la cetosis de los pequeños rumiantes son similares a la forma nerviosa de las vacas, aunque manifestadas de forma más grave. Las ovejas y las cabras son más susceptibles a los efectos de la cetosis que los bovinos, siendo observadas, además de los síntomas nerviosos, una severa acidosis metabólica, falla renal aguda, uremia y deshidratación. El animal se aleja del grupo y aparenta ceguera, no reacciona ante estímulos y tambalea, permanece varias horas junto a los bebederos, pero no bebe agua. Hay constipación, temblores musculares, salivación, convulsiones, y puede ser detectado hálito cetónico. En tres a cuatro días puede entrar en decúbito, manteniendo estado de profunda depresión, y llega a coma y muerte. Generalmente hay muerte de los fetos, lo que exacerba la toxemia y aumenta las posibilidades de mortalidad.

Tratamiento de la cetosis de los pequeños rumiantes

A diferencia de la cetosis bovina, la respuesta terapéutica en los pequeños rumiantes es ineficaz o nula cuando el animal ya se encuentra en decúbito. Antes del animal echarse es necesaria una terapia de reposición de fluidos, electrolitos y restablecimiento del equilibrio ácido-básico, además de glucosa intravenosa. Es utilizada administración endovenosa de glucosa (6 g durante 6-8 veces/día), junto con insulina (30 UI intramuscular cada 48 h por dos veces). Adicionalmente, puede ser administrada inyección endovenosa de solución Ringer-lactato, además de la administración de líquidos con sonda esofágica. Otra alternativa de terapia es la administración de infusiones orales, cada 4 horas, de una solución de 160 mL conteniendo 45 g de glucosa, 8,5 g de cloruro de sodio, 6,2 g de glicina y electrolitos (soluciones antidiarreicas). En ocasiones será necesaria

la remoción del feto, el cual es la causa del drenaje de glucosa, mediante cesárea o inducción hormonal del parto con glucocorticoides. Así como en vacas, es de utilidad la administración de propilenglicol o glicerol vía oral.

Para el control de la toxemia de la gestación son aplicadas recomendaciones similares a las de las vacas. El nivel nutricional debe ser aumentado a partir del tercer mes de gestación. La condición corporal ha de ser evaluada a los tres meses de gestación, con recomendación para tener un score corporal de 2,5-3,0 (escala de 1 a 5). Los últimos dos meses de gestación son de especial importancia para prevenir la toxemia de la gestación, ya que es la época en que el peso de los fetos aumenta en 70%. En ese período es recomendable suministrar concentrado (250 g/día, aumentando progresivamente hasta llegar a 1 kg/día) en las dos últimas semanas de gestación. En pequeños rumiantes también debe ser evitado el aumento excesivo de peso al inicio de la gestación, siendo preferida alimentación de pastoreo en esa época, reservando la suplementación con concentrado solo para el final de la gestación. Todas las situaciones que sometan los animales a estrés requieren ser evitadas, sobre todo al final de este periodo.

Cetosis en otras especies

Es posible la ocurrencia de cetosis de lactación en cabras de producción lechera o en vacas de carne amamantando dos terneros. También puede ocurrir toxemia de la gestación en cabras o en vacas con gestación gemelar, especialmente en los dos últimos meses de gestación, sometidas a condiciones de déficit energético y estrés, como privación súbita de alimento o de agua, o baja significativa en la calidad del alimento.

Lipidosis hepática

La lipidosis hepática, hígado graso o infiltración lipídica del hígado es un trastorno del metabolismo lipídico debido a la excesiva movilización de triglicéridos del tejido adiposo al hígado. Sus causas son múltiples, pero en general puede ser consecuencia de la privación de alimento, el aumento súbito de la demanda energética, o la interferencia en la formación de lipoproteínas hepáticas que impiden la exportación de lípidos del hígado a la circulación.

Etiología de la lipidosis hepática

Cualquier causa que interfiera con la síntesis de lipoproteínas resulta en acúmulo de grasa en el hígado. Todas las hepatotoxinas (etionina, micotoxinas, cloroformo, puromicina, ácido orótico) producen disfunción hepática por interferir en la síntesis de apoproteínas requeridas para la formación de lipoproteínas. La deficiencia de colina causa hígado graso debido a la falta de síntesis de los fosfolípidos necesarios para formar el complejo lipoproteico. La ingestión de alcohol aumenta la captación hepática de ácidos grasos e impide su exportación en las lipoproteínas. Por consiguiente, contribuye a la instalación de hígado graso, lo que se ve agravado por ser el etanol precursor de acetato, fuente de ácidos grasos. El ayuno prolongado y la diabetes mellitus provocan acúmulo de grasa en el hígado debido a la movilización exagerada de lípidos unida a la falla de producción de lipoproteínas.

El trastorno es frecuente en gatos obesos que huyen de la casa del propietario por varios días. En vacas lecheras de alta producción es frecuente observar el problema en las primeras semanas de lactación, existiendo mayor susceptibilidad en vacas que reciben excesiva cantidad de alimento durante el periodo seco y llegan con sobrepeso al parto. También puede estar asociada con presentación de trastornos después del parto, como hipocalcemia, cetosis, desplazamiento del abomaso o cualquier situación que cause anorexia total, como retención de placenta o distocia. Ha sido propuesto como agente etiológico la acelerada lipomovilización desde los depósitos corporales hasta el hígado, sea por disminución de alimento en las vacas próximas al parto, o por una intempestiva demanda de energía en el posparto de vacas lecheras (inicio de la lactación), o en ganado de carne y ovejas, por gestaciones gemelares. Cualquier deficiencia energética por carencia de alimento (manejo) o por imposibilidad endógena del animal en producir energía de rápida utilización, lleva a una acelerada lipomovilización de ácidos grasos de cadena larga de sus reservas corporales, lo que ocasiona acúmulo de grasa en los hepatocitos, agotamiento del glucógeno hepático, transporte alterado de las lipoproteínas hepáticas, hipoglicemia, producción de cuerpos cetónicos y establecimiento de acetonemia, terminando con muerte por coma hepático siete a diez días después de iniciado el cuadro clínico.

Señales clínicas de la lipidosis hepática

Algunos animales, antes de morir, exhiben cuadro nervioso con temblores musculares, ataxia, incoordinación, inquietud y agresividad. Las señales terminales son ictericia y diarrea amarilla y fétida. Se recomienda hacer diagnóstico diferencial para desplazamiento de abomaso, cetosis clínica o subclínica, hipocalcemia y peritonitis. El grado de lipomovilización y, por tanto, el grado de infiltración hepática, dependen del peso corporal (reserva de gordura) y el grado de deficiencia en consumo de energía. En casos severos (mayor que 34 % de gordura infiltrada) se observan hipoglicemia, acetonemia, acetonuria, aumento de ácidos grasos libres, beta-hidroxibutirato, bilirrubina y enzimas hepáticas (AST, FA, LDH, GGT), simultáneamente con disminución de colesterol, albúmina e insulina. En la necropsia se puede hallar hepatomegalia, hígado friable y graso, túbulo renal con grasa y adrenomegalia con coloración amarilla intensa.

Tratamiento de la lipidosis hepática

No existe tratamiento específico. Se busca disminuir la intensidad de los síntomas con fármacos de protección hepática. El tratamiento puede dirigirse a corregir los efectos de la cetosis con inyección endovenosa de solución de glucosa con electrolitos, dexametasona (20 mg cada dos días) e infusión oral de propilenglicol. Algunos nutrientes esenciales, como colina, vitamina B_{12} y metionina previenen la presentación de hígado graso por estar envueltos en la síntesis de lipoproteínas, sea de apoproteínas o de fosfoglicéridos. El tratamiento de casos graves suele no ser efectivo y el pronóstico debe ser discutido antes de inicarse el tratamiento. En el caso de decidirse por el uso de terapia el foco estará en reducir la movilización de grasa y suministrar una fuente de glucosa, por tanto, energía a fin de favorecer la función hepática. El tratamiento debe iniciar precozmente antes de un acúmulo elevado de grasa en el hígado y un comprometimiento irreversible de la función hepática. En casos moderados se pueden administrar 500 mL de glucosa 50 % vía endovenosa, acompañada de 200 UI de insulina de larga acción, una o dos veces con intervalos de 48 h. También se puede adoptar el uso de Drench como recomendado para el tratamiento de la cetosis.

En el control del trastorno se debe considerar la alimentación de las vacas lecheras durante el último trimestre de gestación, evitando que engorden en ese período, además de propiciar el consumo de alimento en animales con distocia y/o retención de placenta. El uso de perfil metabólico es útil para determinar la condición energética, mediante medición de glucosa y beta-hidroxibutirato, así como de cuerpos cetónicos en la leche o en la orina. Una prueba fundamental es determinar los valores de AST para evaluar lesión hepática. El uso de propilenglicol al inicio de la lactación ha sido empleado para prevenir la excesiva lipomovilización, promoviendo la gluconeogénesis. La prevención incluye evaluar la condición corporal durante el periparto, comenzando dos meses antes del parto hasta tres meses después, considerando que un score de 3,0 a 3,5 en la escala de 1-5 es ideal para el parto. La observación de la condición corporal durante la lactación sirve para monitorear la condición nutricional del rebaño.

Anormalidades de las lipoproteínas plasmáticas

Dos tipos de anormalidades pueden existir envolviendo las lipoproteínas plasmáticas: deficiencia y exceso.

Deficiencia de lipoproteínas

Las deficiencias de lipoproteínas son entidades heredadas y pueden ser por falta de β-lipoproteína (abetalipoproteinemia) y de HDL o α-lipoproteína (enfermedad de Tangier). Estos dos trastornos se relacionan apenas con humanos. La falta de β-lipoproteína causa fallas en la absorción de ácidos grasos esenciales y de vitaminas liposolubles y en el transporte de triglicéridos, sea en VLDL o en quilomicrones. Se observan niveles plasmáticos muy bajos de colesterol, fosfolípidos y triglicéridos; clínicamente ocurren trastornos neurológicos, crecimiento retardado, esteatorrea y distensión abdominal. La falta de α-lipoproteína es un trastorno hasta ahora observado apenas en un grupo familiar en la isla Tangier (de ahí el nombre). También se observan bajos niveles de colesterol y fosfolípidos, aunque el disturbio no es tan serio como la abetalipoproteinemia. Las señales clínicas están relacionadas con deposición anormal de lípidos en los tejidos corporales.

Exceso de lipoproteínas

Las hiperlipoproteinemias han sido observadas en humanos y animales. El aumento de lipoproteínas puede ser secundario a una enfermedad sistémica como diabetes mellitus o hipotiroidismo, o primario, principalmente en humanos, relacionado con factores heredados. Existen varios tipos de hiperlipoproteinemias, dependiendo de cuál es la lipoproteína envuelta (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL). La clasificación fue posible gracias a técnicas de inmunoanálisis específicas para cada apoproteína. El exceso de quilomicrones ha sido observado como consecuencia de diabetes mellitus, pancreatitis y alcoholismo agudo. En la diabetes la hiperlipidemia da a la sangre una apariencia de 'sopa de tomate'. El aumento de quilomicrones causa elevación de triglicéridos, al paso que el aumento de VLDL lleva al aumento de colesterol. En la diabetes la hiperlipidemia puede deberse a falla en la lipólisis de los quilomicrones y de la VLDL secundaria a la deficiencia de la enzima lipoproteína-lipasa en las células, y no a la sobreproducción de lipoproteínas. El exceso de LDL causa aumento de colesterol en la sangre y ha sido observado como enfermedad familiar en humanos, derivada de mutaciones en el receptor LDL. El aumento de colesterol, junto con triglicéridos, también ha sido observado en la hiperlipoproteinemia secundaria a hipotiroidismo y a enfermedad obstructiva hepática. En algunos grupos familiares se aprecia hipercolesterolemia, causando aterosclerosis prematura, aparentemente debida a mutaciones en los genes que codifican para apolipoproteínas. Tanto en humanos como en animales el polimorfismo de las apolipoproteínas está relacionado con el aumento del número de fallas genéticas causadoras de anormalidades en el metabolismo de los lípidos. Ya fueron demostrados polimorfismos de las lipoproteínas en vacas, ovejas, aves, cerdos, conejos, micos y peces.

Hiperlipidemias en animales

Son trastornos que afectan el transporte de lípidos, resultando en valores anormalmente elevados de triglicéridos, de colesterol, o de ambos. En su mayoría son problemas transmitidos genéticamente y resultantes de la alteración de una o varias proteínas comprometidas en la producción, procesamiento o transporte de lípidos plasmáticos. En equinos puede ocurrir aumento de VLDL como consecuencia de inanición, que puede acentuarse en animales obesos o en condiciones de estrés (gestación, lactación, parasitismo, frío). A diferencia de otros animales en los que el ayuno causa aumento en los niveles de ácidos grasos libres, en el caballo el hígado tiene una gran capacidad de formar VLDL con los lípidos movilizados, provocando hiperlipoproteinemia con poco aumento de colesterol y ácidos grasos libres. El proceso, sin embargo, puede estar acompañado de infiltración grasa en el hígado, corazón y riñones. Es probable que la propia utilización de la VLDL esté anormal. Las hiperlipidemias en caninos tienen ocurrencia relativamente frecuente, relacionada con defectos congénitos del metabolismo lipídico. Ya fueron descritos defectos genéticos en las razas Schnauzer miniatura y en Beagles. Por otra parte, las hiperlipidemias pueden ser secundarias a diabetes mellitus, hipotiroidismo y pancreatitis, con hipercolesterolemia y aumento de HDL, LDL y triglicéridos. Otros trastornos que causan hiperlipidemia en perros son hepatitis, síndrome nefrótico, hipoalbuminemia e inanición. En cerdos ha sido caracterizado un defecto genético de la proteína apo B, que viene acompañado de hipercolesterolemia y lesiones ateroscleróticas en las arterias coronarias. Es probable que la hipercolesterolemia esté relacionada con falla en la unión al receptor LDL. Un problema genético serio es la ausencia de lipoproteína-lipasa, que imposibilita la remoción de triglicéridos de los quilomicrones después de las comidas. En esos casos, ocurren depósitos de grasa subcutáneos (xantomas eruptivos) además de pancreatitis, síntomas que son aliviados con dietas sin grasas.

Obesidad

La obesidad es definida como una acumulación de grasa en exceso, al punto que afecta la optimización de las funciones corporales. Esa condición, en animales de compañía, viene aumentando como consecuencia de la sobrecarga de glúcidos y grasas en la dieta, castración, sedentarismo y resistencia a la insulina, lo que aumenta la susceptibilidad a varias enfermedades. El sobrepeso se establece cuando el peso corporal está hasta 20% por encima del ideal, mientras que la obesidad se considera cuando pasa del 20% de ese peso. El problema es más frecuente en perros, gatos y humanos. Las causas precisas no están esclarecidas. En humanos el principal mecanismo es el consumo de calorías más allá de los requerimientos, lo que se relaciona con hábitos alimentarios. Las causas de la obesidad

pueden ser de origen endocrino, farmacológico, genético y ambiental. Causas endocrinas incluyen hipotiroidismo, hiperadrenocorticismo y tumores de hipotálamo que resultan en hiperfagia. El factor genético es importante en humanos, donde el 80 % de los hijos de obesos serán obesos, contra 14 % de los hijos de padres normales. Entre las principales complicaciones clínicas de la obesidad están hipertensión, diabetes mellitus y trombosis (por disminución de los niveles de antitrombina III). En condiciones normales los animales controlan la cantidad de alimento ingerido, pero como consecuencia de la alta palatabilidad y el desequilibrio de los alimentos comerciales la gran mayoría de los animales ingiere mayor cantidad de alimento del que sería necesario para las condiciones de manutención. Cerca del 25 % de los gatos y 40 % de los perros presentan sobrepeso, lo que muestra la dificultad de reconocer la condición y las formas de evaluarla. Con la obesidad surgen complicaciones metabólicas que pueden llevar al desarrollo de varias enfermedades, entre las cuales la más comúnmente observada en la clínica de pequeños animales es la diabetes mellitus. En el desarrollo de la obesidad juvenil está alterado no solo el tamaño de los adipocitos, sino también su número, el cual permanece por toda la vida. En la obesidad adquirida del adulto este efecto no ocurre, aumentando apenas el tamaño de las células, por lo que su control es más fácil.

Aunque no sea difícil obtener la identificación de la obesidad, la investigación de su grado es más compleja, pues el peso corporal no es un buen índice para evaluar la cantidad de grasa corporal, utilizado aisladamente, una vez que puede estar relacionado con la cantidad de tejido muscular. Para esa evaluación existen varios parámetros, aunque la mayoría, por haber sido desarrollada para humanos, demanda altos costos y no son métodos prácticos. Actualmente se ha utilizado la mensuración del índice de masa corporal (IMC) y la evaluación del *score* de condición corporal como métodos prácticos para determinar la obesidad en perros y gatos, presentando buena correlación con métodos más sofisticados, como la mensuración de la absorción de rayos X de energía dual (DEXA). El IMC se basa en medidas físicas simples que pueden ser usadas para estimar el contenido de masa adiposa en gatos. Este puede ser obtenido a partir de dos medidas físicas, ambas realizadas con el animal en estación, los miembros perpendiculares al piso y la cabeza en posición erecta; son ellas:

a) CCT, circunferencia de la caja torácica a nivel de la novena costilla (en centímetros).

b) MPI, medida del miembro posterior izquierdo desde la rótula hasta la tuberosidad calcánea (en centímetros).

El porcentaje de grasa corporal (GC) puede ser calculado utilizando la siguiente ecuación (Hawthorne y Butterwick, 2000):

$$GC = \left(\frac{\left(\frac{CCT}{0,7067} - MPI \right)}{0,9156} \right) - MPI$$

Un porcentaje de grasa corporal mayor de 30 % indica obesidad; entre 10 % y 30 %, indica peso ideal; y abajo de 10 %, caquexia.

Obesidad y diabetes mellitus

Perros y gatos son diferentes en términos metabólicos, requieren niveles alimentarios diferenciados de proteínas, grasas y glúcidos. Un manejo mal elaborado entre esos nutrientes puede causar serios disturbios metabólicos, entre ellos la diabetes mellitus, que ocurre con frecuencia. En la **Tabla 4.5** se puede observar que, en las dos especies, la obesidad es una de las principales causas incriminadas en la etiología de la diabetes.

La obesidad es común en gatos diabéticos, resultando del excesivo aporte calórico en la alimentación de ración seca felina. Ella causa resistencia reversible de la insulina, la cual se resuelve cuando la obesidad es curada, además de alterar la tolerancia de los tejidos a la glucosa aunque no exista hiperglicemia. En el desarrollo de la obesidad en felinos ocurren aumento en la resistencia de los tejidos a la insulina y reducción en la efectividad de la glucosa. Eso muchas veces vuelve la evaluación clínica difícil, una vez que no se sabe si el felino es insulino-dependiente o no. El animal obeso necesitará mayor aporte de insulina para mantenerse, lo que, a medio y largo plazo lleva al agotamiento de las células β-pancreáticas. Además, lleva a la disminución de la translocación para la membrana plasmática del transportador GLUT4. Así, parece plausible que el reconocimiento precoz del disturbio puede ayudar a impedir dicho agotamiento pancreático.

Tratamiento de la obesidad

El manejo efectivo de la obesidad y su prevención dependen de la adquisición de informaciones sobre el desorden, a partir de las cuales los factores de riesgo pueden ser identificados y minimizados.

Aporte calórico

El control de peso depende de la reducción de la ingestión calórica, sea por la reducción del suministro diario en casos moderados, sea por la introducción de dietas especiales en casos más graves. Las recomendaciones para felinos determinan, como requerimiento energético, 80 kcal/kg de PV, pero esas necesidades son aplicables apenas para animales en actividad. Cambios en el estilo de vida del felino, en las últimas décadas, llevaron a alteraciones en las necesidades diarias de energía.

En perros se debe tener como objetivo una pérdida de peso inicial de 15%, calculándose el contenido calórico diario (en calorías) a partir de la fórmula 55 × [peso corporal inicial (kg)^{0,75}], y para gatos a partir de la fórmula 30 × [peso corporal inicial (kg)]. Con este suministro los perros deben reducir de peso en seis semanas y los gatos en dieciocho semanas. Sin embargo, la restricción calórica solo debe ser aplicada en animales por encima del peso ideal; animales por debajo del peso requieren ser alimentados con dietas inicialmente energéticas y, a medida que ganen peso, ofrecerles alimento con restricción de energía. Los animales han de ser reevaluados cada dos semanas, verificándose si el objetivo de pérdida de peso está siendo alcanzado. La pérdida de peso semanal debe estar en torno de 1% - 2%; si esa pérdida es mayor el aporte calórico precisa aumentar en 10% - 15%, y si no hubo pérdida, reducir adicionales 10% - 15% en el aporte calórico, además de la cantidad ya restringida. A la par de la reducción calórica, el manejo dietético incluye una modificación en la frecuencia de ingestión diaria, animales que son alimentados una vez al día son más predispuestos a la obesidad que los alimentados varias veces con pequeñas cantidades. Eso ocurre porque el aumento en la frecuencia alimentaria lleva a la pérdida energética a través de la termogénesis. Los objetivos principales de la terapia dietética en el manejo de animales diabéticos son minimizar el impacto de la refección en la hiperglicemia posprandial y corregir o prevenir la obesidad. Para perros diabéticos es necesario ser ofrecida una dieta rica en carbohidratos complejos, como fibra alimentaria y almidón, que compongan 45% - 60% de la energía metabolizable. La fibra compleja presenta una digestión más prolongada, permaneciendo en el tracto gastrointestinal más tiempo y disminuyendo la oscilación en la hiperglicemia posprandial por retardar la absorción de otros nutrientes, además de presentar un efecto sobre la liberación de hormonas del TGI en la circulación. Fibras altamente fermentables mejoran la homeostasis de la glucosa en perros sanos, siendo preferible su inclusión a niveles altos de fibra no fermentable, como la celulosa.

Aporte proteico

Se presentan controversias con relación al aporte proteico en dietas de humanos diabéticos. El consumo excesivo de proteínas, sobre todo asociado a altos niveles

Tabla 4.5 Etiología comparativa de la diabetes mellitus entre perros y gatos, en orden de importancia (Zerbé, 2001)

Etiología	Perros	Gatos
Genética	1.º	7.º
Insulinitis inmunomediada	2.º	8.º
Pancreatitis	3.º	6.º
Obesidad	4.º	2.º
Infección	5.º	3.º
Enfermedad concomitante	6.º	4.º
Drogas	7.º	5.º
Amiloidosis	8.º	1.º

de sodio y potasio, puede contribuir al desarrollo de la nefropatía diabética, mientras que el consumo de bajos niveles puede evitar esa complicación. Originalmente perros y gatos cazaban presas cuya composición era en torno del 42 % de proteína y 55 % de grasa, o sea que su metabolismo está adecuado a digerir dietas con esa composición. Varios estudios demuestran que, diferente de lo que ocurre con humanos, altas dosis proteicas no son responsables del origen y la progresión de disturbios renales en perros, aunque ya haya un grado de lesión en ese órgano. Las proteínas son necesarias en todos los procesos metabólicos y no deben estar ausentes, aunque cantidades moderadas (14 % - 30 %) son adecuadas para el control de la obesidad.

4.11 Bibliografía

Acorda, J. H., Yamada, H., y Ghamsari, S. M. (1995). Comparative evaluation of fatty infiltration of the liver in dairy cattle by using blood and serum analysis, ultrasonography, and digital analysis. *Veterinary Quarterly, 17*, 12-14.

Bertics, S. J., y Grummer, R. R. (1999). Effects of fat and methionine hydroxyl-analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. *J. Dairy Sci., 82*, 2731-2736.

Brown, M. S., Goldstein, J. L., y How, L. D. (1984). Receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci. Am., 251*, 58-66.

Brown, M. S., y Goldstein, J. L. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science, 232*, 34-47.

Contreras, P. A. (1998). Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Archivos de Medicina Veterinaria, 30*, 1-13.

Drackley, J. K., Overton, T. R., y Douglas, G. N. (2001). Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci., 84* (Suppl. E), E100-E112.

Duffield, T. F. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 16*, 231-253.

Duffield, T. F., Kelton, D. F., Leslie, K. E., Lissemore, K. D., y Lumsden, J. H. (1997). Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J., 38*, 713-718.

Fiorentin, E., Tiecher, A., Menegat, C., Soares, C., Aires, A., Rocha, R., y González, F. H. D. (2017). Accuracy of two hand-held electronic devices for determination of blood β-hydroxybutyrate in dairy cows. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 18*, 439-445.

Geelen, M. J., Harris, R. A., Beynen, A. C., y McCune, S. A. (1980). Short-term hormonal control of hepatic lipogenesis. *Diabetes, 29*, 1006-1022.

Geishauser, T., Leslie, K., Tenhag, J., y Bashiri, A. (2000). Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci., 83*, 296-299.

Geishauser, T., Leslie, K., Kelton, D., y Duffield, T. (1998). Evaluation of five cowside tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci., 81*, 438-443.

German, A. J. (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. The Journal of Nutrition, 136, 1940S–1946S.

Goff, J. P., y Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci., 80*, 1260-1268.

Griffin, B. (2000). Feline hepatic lipidosis: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *The Compendium, 22*, 847-856.

Griffin, B. (2000). Feline hepatic lipidosis: treatment and recommendations. *The Compendium, 22*, 910-922.

Gröhn, Y. T., McDermott, J. J., Schukken, Y. H., Hertl, J. A., y Eicker, S.W. (1999). Analysis of correlated continuous repeated observations: modelling the effect of ketosis on milk yield in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine, 39*, 137-153.

Grum, D. E., Drackley, J. K., y Younker, R. S. (1996). Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci., 79*, 1850-1864.

Gurr, M. I., y Harwood, J. L. (1991). *Lipid biochemistry: an introduction*, 4.ª ed. London, England: Chapman & Hall.

Hawthorne A., Butterwick, R.B. (2000). Predicting the body composition of cats: development of a zoometric measurement for estimation of percentage body fat in cats. *J. Vet. Intern. Med., 14*, 365.

Holtenius, P., y Holtenius, K. (1996). New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. *Journal Veterinary Medical Series A, 43*, 579-587.

Ingvartsen, K. L. (2006). Feeding —and management— related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology, 126*, 175-213.

Ingvartsen, K. L., Dewhurst, R. J., y Friggens, N. C. (2003). On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science, 83*, 277-308.

Jorritsma, R., Baldée, S. J., Schukken, Y. H., Wensing, T. H., y Wentink, G. H. (1998). Evaluation of a milk test for detection of subclinical ketosis. *Veterinary Quarterly 20*, 108-110.

Kostner, G. M. (1983). Apolipoproteins and lipoproteins of human plasma: significance in health and in disease. *Adv. Lipid. Res., 20*, 1-43.

McCarthy, A. D., y Hardy, D. G. (1984). Fatty acid synthase- an example of protein evolution by gene fusion. *Trends Biochem. Sci., 9*, 60-63.

Mel*é*ndez, P., Goff, J. P., Risco, C. A., Archbald, L. F., Littell, R., y Donovan, G. A. (2006). Incidence of subclinical ketosis in cows supplemented with a monensin controlled-release capsule in Holstein cattle, Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine, 73*, 33-42.

Moore, D. A., e Ishler, V. (1997). Managing dairy cows during the transition period: focus on ketosis. *Veterinary Medicine*, December, 1061-1072.

Nielsen, N. I., e Ingvartsen, K. L. (2004). Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology, 115*, 191-213.

Nosadini, R., Avogaro, A., Doria, A., Fioretto, P., Trevisan, R., y Morocutti, A. (1989). Ketone body metabolism: a physiological and clinical overview. *Diabetes Metab. Res. Rev., 5*, 299-319.

Østergaard, S., y Grohn, Y. T. (1999). Effects of diseases on test day milk yield and body weight of dairy cows from Danish research herds. *J. Dairy Sci., 82*, 1188-1201.

Rajala-Schultz, P. J., Grohn, Y. T., y McCulloch, C. E. (1999). Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci., 82*, 288-294.

Robinson, A. M., y Williamson, D. H. (1980). Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. *Physiol. Rev., 60*, 143-187.

Rukkwamsuk, T., Wensing, T., y Geelen, M. J. (1999). Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci., 82*, 500-505.

Sakai, T., Hayakawa, T., Hamakawa, M., Ogura, K., y Kuboi, S. (1993). Therapeutic effects of simultaneous use of glucose and insulin in ketotic dairy cows. *J. Dairy Sci., 76*, 109-114.

Schulz, H., y Kunav, W. H. (1987). Beta-oxidation of unsaturated fatty acids: a revised pathway. *Trends Biochem. Sci., 12*, 403-406.

Smith, T. R., Hippen, A. R., Beitz, D. C., y Young, J. W. (1997). Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *J. Dairy Sci., 80*, 1569-1581.

Studer, V. A., y Grummer, R. R. (2004). Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci., 76*, 2931-2939.

Veiga, A. (2005). Obesidade e diabetes mellitus em pequenos animais. En F. H. D. González y A. P. Santos (eds.). *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil* (pp. 82-91). Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Wang, C. S., Hartsuck, J., y McConathy, W. J. (1992). Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochim. Biophys. Acta, 1123*, 1-17.

Zerbé, C. A. (2001). What is so special about feline diabetes mellitus? *Journal of Feline Medicine and Surgery, 3*, 99-103.

Capítulo 5
Bioquímica clínica de glúcidos

5.1 Estructura y clasificación de los glúcidos

Los glúcidos o carbohidratos son las biomoléculas orgánicas más abundantes en la naturaleza y se encuentran sobre todo en la forma de polisacáridos, como el almidón y la celulosa en las plantas, y el glucógeno en los animales. Los glúcidos constituyen una importante fuente energética para los animales, además de hacer parte de la estructura de la pared de las células vegetales y bacterianas. Estructuralmente los glúcidos son polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, y el nombre carbohidrato es debido al concepto originado de su fórmula empírica, $C_n(H_2O)_n$, a partir de la cual fueron clasificados inicialmente como hidratos de carbono, aunque existan glúcidos que no obedezcan a esta fórmula, así como otros que contienen elementos diferentes de C, H y O, como, por ejemplo, N, S y P.

Dependiendo del número de subunidades contenidas en su estructura, los glúcidos son clasificados en: (a) monosacáridos o azúcares simples, como la glucosa o la fructosa; (b) oligosacáridos, que contienen unas pocas subunidades de monosacáridos unidas entre sí mediante enlaces glucosídicos. Entre los más abundantes están los disacáridos, que contienen dos subunidades de monosacáridos, como la sacarosa y la lactosa. En la **Figura 5.1** se muestran las estructuras de los monosacáridos y disacáridos más importantes. Los oligosacáridos con más de tres subunidades suelen estar asociados a otras biomoléculas, en especial lípidos formando glucolípidos y proteínas formando glucoproteínas; (c) polisacáridos, que contienen centenas de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos, pudiendo ser lineares, como la celulosa, o ramificados como el almidón y el glucógeno (**Figuras 5.2 y 5.3**).

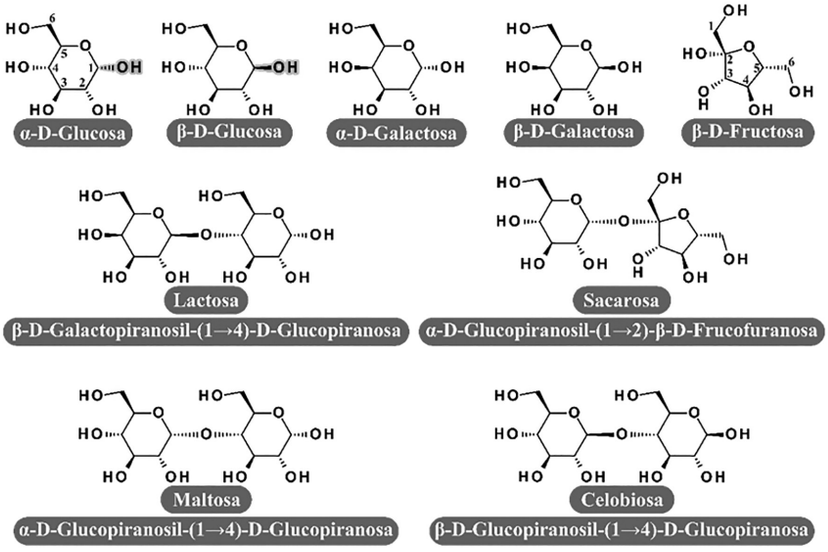


Figura 5.1. Estructuras de algunos monosacáridos y disacáridos importantes en el metabolismo animal

Para referencia, los átomos de carbono en la α-D-glucosa y en la β-D-fructosa están numerados. También, en la α-D-glucosa y en la β-D-glucosa están resaltados con fondo gris los radicales hidroxilo (unidos al átomo de carbono 1) que se proyectan hacia abajo (α) o hacia arriba (β) del plano de la hoja de la página, respectivamente. La lactosa se compone de un residuo de β-D-galactosa unido por enlace glucosídico a un residuo de α-D-glucosa. La sacarosa se compone de un residuo de α-D-glucosa unido por enlace glucosídico a un residuo de β-D-fructosa. La maltosa y la celobiosa pueden ser obtenidas por hidrólisis parcial de almidón y celulosa, respectivamente.

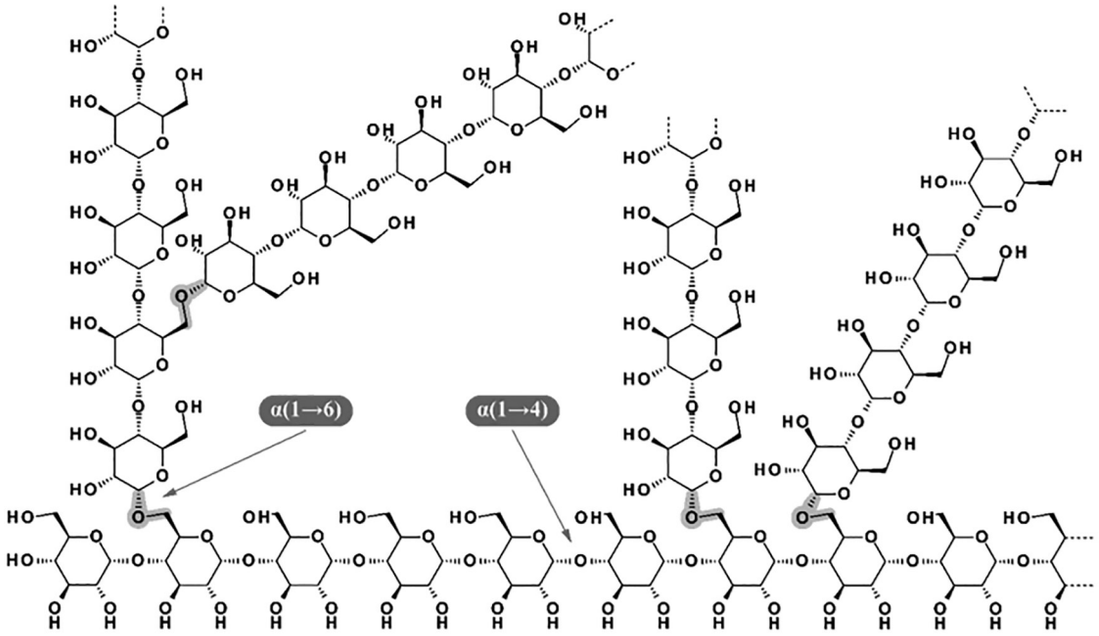


Figura 5.2. Estructura de la amilopectina y del glucógeno

Tanto la amilopectina, parte integrante del almidón vegetal, como el glucógeno animal, son formados por residuos de α-D-glucosa polimerizados en largas cadenas lineares a través de enlaces α(1→4), con ramificaciones derivadas de enlaces α(1→6). Los cuatro puntos de ramificación de la cadena que contiene enlaces α(1→6) están resaltados con fondo gris. La amilosa, que también es parte integrante del almidón, consiste apenas de cadenas lineares con enlaces α(1→4).

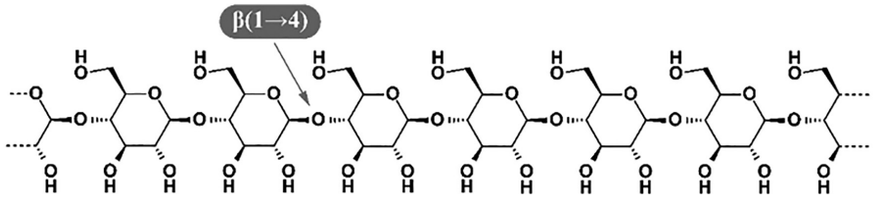


Figura 5.3. Estructura de la celulosa

La celulosa está formada por residuos de β-D-glucosa polimerizados en largas cadenas lineares a través de enlaces β(1→4), sin ramificaciones.

5.2 Digestión y absorción de los glúcidos

Animales monogástricos

Las principales fuentes de glúcidos en la dieta de los animales monogástricos son polisacáridos, tales como almidón, glucógeno y dextrinas, y algunos disacáridos, como sacarosa, lactosa y maltosa. Los polisacáridos constituyen los glúcidos más abundantes en la naturaleza y difieren entre sí en el tipo y número de monosacáridos que los forman, en el tipo de enlace entre sus subunidades y en el grado de ramificación. Ellos sirven de reservas energéticas o de elementos estructurales y están formados por centenas a miles de unidades de monosacáridos, teniendo pesos moleculares muy variados, pero siempre elevados. Entre los polisacáridos que constituyen reservas energéticas están el almidón y el glucógeno, constituidos por unidades de glucosa. El almidón se encuentra en los vegetales, principalmente en las semillas y las tuberosas, mientras que el glucógeno es propio de los animales. Ambos polisacáridos se almacenan en gránulos citoplasmáticos. El almidón está organizado en la forma de dos polímeros: amilosa y amilopectina. La amilosa está compuesta por miles

de unidades de glucosa unidas por enlaces α(1→4), sin ramificaciones, y tiene un peso molecular de 5 a 500 kDa. La amilopectina posee glucosas unidas linealmente por enlaces α(1→4) y también ramificaciones unidas mediante enlaces α(1→6) cada veinticinco a treinta glucosas, teniendo peso molecular mayor de 1.000 kDa. El glucógeno está organizado de manera similar a la amilopectina, pero sus ramificaciones son más cortas y están en mayor número, cada ocho a diez unidades de glucosa.

La digestión de los glúcidos se inicia por la amilasa salivar, enzima presente en la saliva (excepto en el perro), que actúa por poco tiempo, continuando en el estómago, donde el jugo gástrico causa hidrólisis ácida de los polisacáridos. La digestión más significativa ocurre en el intestino delgado, donde los polisacáridos son atacados por la α-amilasa, enzima proveniente del jugo pancreático, que hidroliza los enlaces α(1→4) de la fracción amilosa del glucógeno o del almidón, produciendo maltosa y maltotriosa. La maltasa, enzima secretada por las células intestinales, hidroliza las moléculas de maltosa y de maltotriosa para generar glucosa libre (**Figura 5.4**). La fracción amilopectina de los polisacáridos, que forma fracciones ramificadas debido a sus enlaces α(1→6) entre las unidades de glucosa, genera mayor proporción de dextrinas límite, que son compuestos ramificados formados por hasta ocho-diez moléculas de glucosa. La enzima intestinal isomaltasa (α-dextrinasa) hidroliza la dextrina límite a glucosa y maltosa. Las células intestinales también secretan lactasa y sacarasa, que hidrolizan lactosa y sacarosa, respectivamente, para producir glucosa, galactosa y fructosa.

De esa forma, los productos finales de la digestión de los glúcidos en los monogástricos son los monosacáridos simples, que pueden ser absorbidos por las vellosidades intestinales mediante procesos en los que participan transportadores específicos. La absorción puede ocurrir de dos formas: por difusión facilitada y por transporte activo dependiente de Na^+ (sistema *symport*). La glucosa y la galactosa son absorbidas rápidamente, mientras que la fructosa se absorbe más lentamente. En la circulación enterohepática los monosacáridos aparecen en forma libre e ingresan al hígado mediante transporte pasivo facilitado (con transportador). En algunos grupos humanos, principalmente orientales, árabes y judíos, se observa baja producción de lactasa en adultos, imposibilitando la hidrólisis de la lactosa e impidiendo su absorción intestinal, lo que causa su fermentación en el intestino, con producción de gases y diarrea. Este trastorno, de causas genéticas, es conocido como intolerancia a la lactosa. La lactosa no absorbida es utilizada por las bacterias intestinales, las cuales producen sustancias tóxicas responsables de los signos clínicos.

Animales rumiantes

Las principales fuentes de glúcidos en los rumiantes son celulosa, hemicelulosa y pectina y, en menor proporción, almidón y disacáridos. El almidón es componente importante cuando la dieta es a base de granos (concentrados). La celulosa es el polisacárido estructural más abundante en la naturaleza. Ella forma parte de la pared celular de los vegetales. Está compuesta de unidades de glucosa (10 a 15 kDa) unidas por enlaces β(1→4) lineales y geométricamente extendidos, sufriendo agregaciones que configuran fibras muy resistentes debido a los puentes de hidrógeno formados entre una cadena y otra. La celulosa es insoluble y solo puede ser hidrolizada por ciertos hongos y bacterias que poseen la enzima celulasa, entre los cuales están algunos microorganismos del rumen de los animales poligástricos y del intestino grueso del caballo y el conejo. La celulosa por lo general está combinada con lignina, una sustancia polimérica no glucídica compuesta por derivados de fenilpropano. La lignina se encuentra en mayor proporción en las fracciones leñosas de las plantas o en los forrajes más maduros. Debido a los enlaces de la lignina con la celulosa, la digestibilidad de los pastos se reduce cuando existe mayor proporción de lignina en pastos de mayor edad, pues este compuesto no puede ser hidrolizado por ninguna enzima. Otros polisacáridos asociados con la pared celular vegetal son la hemicelulosa y la pectina, ambos heteropolisacáridos. La hemicelulosa está compuesta por unidades de glucosa, xilosa, manosa, arabinosa y galactosa, encontrándose también asociada con la lignina. La pectina es un polímero que contiene dos subunidades que se repiten secuencialmente: ácidos galacturónicos unidos por enlace β(1→4), intercalados con ramnosas en uniones β(1→2). Debido a su capacidad para retener agua, la pectina es usada como materia prima en el ingrediente de compuestos farmacéuticos indicados para reducir los síntomas de la diarrea.



Figura 5.4. Digestión de los glúcidos en monogástricos

Este esquema representa lo que ocurre en omnívoros y carnívoros no estrictos. En carnívoros estrictos, como los félidos, la proporción de glúcidos en la dieta es bastante reducida.

Todos los polisacáridos que forman parte de la pared de la célula vegetal tienen valor nutritivo para los animales herbívoros, pues estas biomoléculas pueden ser degradadas a sus unidades básicas por las bacterias ruminales. La lignina no posee contenido nutritivo y, cuando está en mayor proporción, entrelaza polisacáridos, dificultando su digestión. Sin embargo, una poca proporción de lignina es considerada benéfica por estimular los movimientos peristálticos del intestino. La pared celular vegetal está compuesta por celulosa en 20% - 40%, hemicelulosa en 10% - 40%, pectina en 1% - 10% y lignina en 5% - 10%, conteniendo también una porción de proteína. A diferencia de los monogástricos, los sustratos alimenticios en los rumiantes son sometidos a fermentación microbiana en el retículo-rumen. Los polisacáridos son hidrolizados en el rumen hasta sus unidades básicas (monosacáridos), ya que los microorganismos ruminales poseen todas las enzimas para romper los enlaces glucosídicos, tanto β como α. En la primera etapa todos los glúcidos son convertidos a monosacáridos, principalmente glucosa, y luego la glucosa es convertida, vía glucólisis, en ácidos grasos volátiles (ácidos grasos con menos de cinco carbonos).

La proporción de los diferentes ácidos grasos volátiles producidos varía de acuerdo con la dieta. En alimentación a base de pastos la proporción aproximada es 65% de ácido acético, 20% de ácido propiónico, 12% de ácido butírico y 3% de otros ácidos, entre ellos valérico, isovalérico e isobutírico. En alimentación a base de concentrados, la proporción de propionato producido aumenta significativamente a expensas del acetato, quedando la proporción en 40% de propionato y 37% de acetato. Otros productos finales de la fermentación ruminal, como formiato, CO_2 e hidrógeno, son convertidos por las bacterias metanogénicas en metano (CH_4), gas que no es aprovechado y debe ser expulsado del rumen, sea por el reflejo de la eructación, sea vía tracto gastrointestinal posterior (**Figura 5.5**).

El tipo de microorganismo predominante en el rumen depende de los sustratos alimenticios, lo que a su vez influye en los productos finales de la fermentación. Así, con alimentación a base de pastos proliferan las bacterias celulolíticas, que degradan celulosa y tienen como principales productos finales de la fermentación acetato, butirato y CO_2, mientras que en la alimentación a base de granos proliferan las bacterias amilolíticas, que degradan almidón y producen más propionato y menos CO_2. Este gas es después convertido en metano (CH_4) y constituye pérdida neta de energía, de forma que las dietas a base de almidón son más eficientes en el aprovechar la energía de los alimentos. La manipulación de la flora microbiana ruminal mediante el uso de agentes ionóforos, como la monensina, ha sido usada para reducir la población de bacterias que producen más acetato y butirato, y estimular las que producen más propionato. Existe una compleja y delicada interacción en la población microbiana del rumen, de forma que cuando la dieta es modificada causando, por tanto, cambio de los sustratos utilizados por los microorganismos, es necesario un proceso de adaptación no inferior a quince días para estabilizar la flora microbiana, bajo riesgo de ocurrir serios trastornos digestivo-metabólicos, como acidosis láctica.

El rumen es un medio altamente reductor por la cantidad de hidrógeno producido en el proceso fermentativo. Parte de ese H sale con el gas metano. Los ácidos grasos volátiles son absorbidos directamente en el rumen y, en menor proporción, en el retículo, omaso

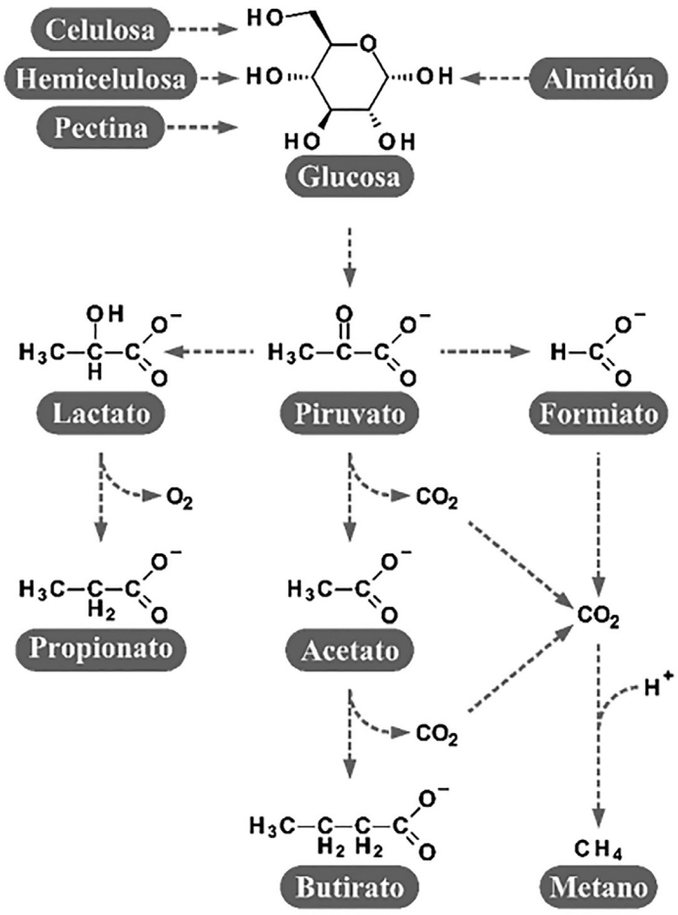


Figura 5.5. Esquema general de los principales procesos fermentativos de glúcidos en el rumen

Acetato, butirato y propionato son ácidos grasos volátiles, siendo el último utilizado para la gluconeogénesis en rumiantes. Dióxido de carbono y metano son los principales gases ruminales, correspondiendo a aproximadamente 66 % y 27 % del total, respectivamente. Ambos son eliminados por la eructación y contribuyen al efecto invernadero. Nitrógeno, oxígeno e hidrógeno juntos constituyen menos del 8 % del resto de los gases ruminales.

e intestino grueso, mediante un proceso de difusión pasiva, en el que el ácido debe estar en su estado no disociado (R-COOH). Siendo el pK de esos ácidos de 4-5, la mayoría de ellos se encuentra en la forma disociada no pH ruminal, que está en torno de 6,7. Sin embargo, como la forma no disociada es absorbida rápidamente, desapareciendo del rumen, la dirección de la reacción de disociación es favorecida en el sentido $R\text{-}COO^- + H^+ \rightarrow R\text{-}COOH$. Los ácidos grasos volátiles absorbidos sufren metabolización en el epitelio ruminal. Cerca de 80 % del butirato se convierte en acetoacetato y β-hidroxibutirato (cuerpos cetónicos), de forma que los niveles de butirato en la sangre portal y sistémica son bajos. La concentración de los cuerpos cetónicos en el plasma es un parámetro de importancia en los estudios metabólico-nutricionales de los rumiantes. En el epitelio ruminal aproximadamente 50 % del propionato puede ser metabolizado a lactato o piruvato. Los rumiantes prácticamente no absorben glucosa en el tracto gastrointestinal, pues ella es completamente fermentada en ácidos grasos volátiles en el rumen, a menos que la dieta sea particularmente rica en sacarosa. El mantenimiento de los niveles de glucosa sanguínea en los rumiantes depende en mayor parte de la síntesis de glucosa en el proceso de gluconeogénesis, a partir del propionato y otros precursores. El tracto gastrointestinal de los rumiantes lactantes es equivalente al de los monogástricos, hasta que el rumen se desarrolla anatómica y bioquímicamente, lo cual depende de la ingesta de forraje.

5.3 Metabolismo de los glúcidos

Los glúcidos, en especial la glucosa, son los principales combustibles utilizados por el organismo para realizar los diferentes trabajos biológicos. La forma de extraer energía de la glucosa es a través de su oxidación en varias etapas. La energía libre que 1 mol de glucosa genera a partir de su completa oxidación hasta CO_2 y H_2O es de 2.840 kJ. La glucosa debe estar siempre disponible para todas las células y, por eso, se encuentra soluble en la sangre manteniendo niveles dentro de intervalos siempre estables, que varían de acuerdo a la especie (**Tabla 5.1**). En cada especie ocurren variaciones de la glucemia, sobre todo en función de dieta, edad y condiciones fisiológicas.

Los glúcidos no solo sirven como fuente de energía para la célula, sino que también funcionan como precursores de metabolitos intermediarios esenciales, tales como aminoácidos, nucleótidos y coenzimas. Algunos compuestos derivados de los monosacáridos que tienen importancia metabólica son los siguientes: (a) derivados aminoglucosídicos que hacen parte de oligosacáridos de membranas; (b) derivados ácidos en el C1 (ácidos aldónicos) o en el C6 (ácidos urónicos): estos compuestos son útiles en la detoxificación de compuestos exógenos y en la metabolización de sustancias endógenas gracias a su propiedad de solubilización en la sangre, lo que facilita la excreción renal; (c) derivados fosfatados: la presencia de estos grupos, que se encuentran disociados y, por tanto, con carga negativa, impiden el paso de la molécula de glucosa a través de las membranas plasmáticas; (d) ácido siálico, derivado ácido de la N-acetilmanosamina, importante monosacárido de nueve carbonos que hace parte de glucoproteínas y glucolípidos.

Almacenamiento de la glucosa: el glucógeno

La glucosa se almacena en la forma de glucógeno, principalmente en el hígado y en el músculo. Los animales monogástricos tienen mayores cantidades de glucógeno hepático que los rumiantes. El glucógeno en el perro puede corresponder a 6 % - 8 % del peso del hígado, mientras que en los bovinos el valor es de 1 % - 3 %. El hígado de animales jóvenes contiene más glucógeno que el de adultos; así, el lechón recién nacido tiene 14,8 %, mientras que el cerdo adulto tiene apenas 4 %. El glucógeno es más abundante en el hígado, donde puede ser almacenado en hasta 8 % del peso del órgano y en el músculo esquelético, donde llega a 1 % del peso de la masa muscular. Debido a su estructura el glucógeno está organizado en forma helicoidal. Esta modalidad de almacenamiento de la glucosa en las células evita grandes cambios en la osmolaridad intracelular, que acontecerían si la glucosa estuviese libre y no con el glucógeno dentro de gránulos citoplasmáticos.

Glucogenólisis: el glucógeno como fuente de glucosa

El glucógeno puede ser degradado enzimáticamente para la obtención de glucosa, a fin de que esta pueda entrar en las rutas oxidativas y así obtener energía. La producción de glucosa a partir del glucógeno se llama glucogenólisis, mecanismo que posee control endocrino, en el cual intervienen las enzimas glucógeno-

Tabla 5.1 Valores de referencia de la glucemia en varias especies

Especie	Unidades convencionales (mg/dL)	Unidades internacionales (mmol/L)
Bovinos	45-75	2,5-4,1
Ovinos	50-80	2,8-4,4
Caprinos	50-75	2,8-4,2
Equinos	75-115	4,1-6,4
Porcinos	85-150	4,7-8,3
Caninos	65-118	3,6-6,5
Felinos	70-130	3,9-7,2
Humanos	70-110	3,9-6,1

fosforilasa, α(1→6) glucosidasa y fosfoglucomutasa. La glucógeno-fosforilasa cataliza la siguiente reacción:

$$(\text{glucosa})_n + \text{Pi} \rightarrow (\text{glucosa})_{n-1} + \text{glucosa-1-fosfato}$$

En esta reacción ocurre quiebre de la unión glucosídica con introducción de una molécula de fosfato sin intervención de ATP (fosforólisis). La fosforilasa actúa en el glucógeno sobre los extremos no reductores de las unidades de glucosa, rompiendo los enlaces α(1→4) hasta encontrar puntos de ramificación con enlaces α(1→6), en los cuales la enzima no puede actuar. De esa forma, los productos finales de la acción de la fosforilasa son unidades de glucosa-1-fosfato y fracciones de dextrina límite. Sobre las fracciones de dextrina límite actúa la enzima α(1→6) glucosidasa o enzima desramificante, la cual rompe los enlaces glucosídicos α(1→6). La glucosa-1-fosfato liberada por la acción de la fosforilasa no puede entrar en el metabolismo todavía, debiendo antes ser transformada en glucosa-6-fosfato por acción de la enzima fosfoglucomutasa. La fosforilasa es una enzima alostérica o regulatoria que aparece en dos formas: una activa llamada fosforilasa *a*, que posee cuatro subunidades idénticas unidas y fosforiladas en los residuos de serina, con peso molecular de 380 kDa; y otra inactiva llamada fosforilasa *b*, separada en dos pares de subunidades desfosforiladas. La fosforilasa como enzima alostérica tiene metabolitos reguladores que la fosforilan (activan) o la desfosforilan (inactivan). Esas acciones son realizadas por dos enzimas: la fosforilasa quinasa (fosforila) y la fosforilasa fosfatasa (desfosforila). A su vez, la enzima activadora fosforilasa quinasa es regulada por la adrenalina, hormona de la médula adrenal, y por el glucagón, hormona del páncreas. Esas hormonas actúan sobre el hígado y el músculo, órganos donde el glucógeno se encuentra almacenado. Por otro lado, la insulina estimula la acción de la enzima inactivadora, la fosforilasa fosfatasa, al tiempo que inhibe la enzima activadora, la fosforilasa quinasa. Por tanto, la glucogenólisis es estimulada por la adrenalina y el glucagón e inhibida por la insulina.

En el hígado el glucógeno constituye la única reserva para mantener la glucemia. En el músculo el glucógeno es usado como reserva energética exclusivamente para la contracción muscular. El hígado es el único órgano que puede 'exportar' glucosa libre a la sangre, ya que posee glucosa-6-fosfatasa, enzima que cataliza la siguiente reacción:

$$\text{glucosa-6-fosfato} \rightarrow \text{glucosa} + \text{Pi}$$

Glucogénesis: la síntesis de glucógeno

El proceso metabólico que lleva a la formación de glucógeno a partir de la glucosa excedente es la glucogénesis. Este proceso se realiza en el citosol de las células de todos los tejidos, aunque tiene mayor importancia en las células del hígado y del tejido muscular esquelético. La glucosa que entra en la formación de glucógeno como glucosa-6-fosfato es convertida en glucosa-1-fosfato por la enzima fosfoglucomutasa, para posteriormente ser convertida en el compuesto activo UDP-glucosa, según las reacciones mostradas en la **Figura 5.6**.

La segunda reacción es catalizada por la enzima UDP-glucosa pirofosforilasa, la cual actúa como punto de control de la glucogénesis. La rápida hidrólisis que sufre el pirofosfato (PPi → 2Pi) permite su desaparecimiento, favoreciendo la reacción en el sentido de la formación de UDP-glucosa. El sustrato para la biosíntesis de glucógeno es la UDP-glucosa. Los monosacáridos unidos a uridina difosfato (UDP) están 'marcados' para participar en reacciones de síntesis y no de degradación. La UDP-glucosa también es intermediaria en la síntesis de galactosa para la formación de lactosa. La UDP-glucosa se incorpora al glucógeno en una reacción catalizada por la enzima glucógeno sintetasa:

$$\text{UDP-glucosa} + (\text{glucosa})_n \rightarrow (\text{glucosa})_{n+1} + \text{UDP}$$

La glucógeno sintetasa es una enzima alostérica controlada hormonalmente, siendo estimulada por la insulina e inhibida por el glucagón. Posee cuatro subunidades y tiene un peso molecular de 360 kDa. Ella no puede catalizar uniones entre C1 y C6 para la obtención de las ramificaciones del glucógeno, en este tipo de enlace participa la enzima ramificante. El efecto biológico de las ramificaciones es volver el glucógeno más soluble y aumentar el número de enlaces no reductores, dejándolo más reactivo a la acción de las enzimas de degradación y síntesis.

Como la enzima glucógeno sintetasa requiere un *primer* de glucógeno para incorporar la UDP-glucosa, cabe la pregunta: ¿cómo es generada la primera molécula de glucógeno? La producción de ese *primer* es realizada por una proteína llamada glucogenina, con peso molecular de 37 kDa, que actúa como si fuera un *primer* al cual se une la primera glucosa, actuando simultáneamente como enzima

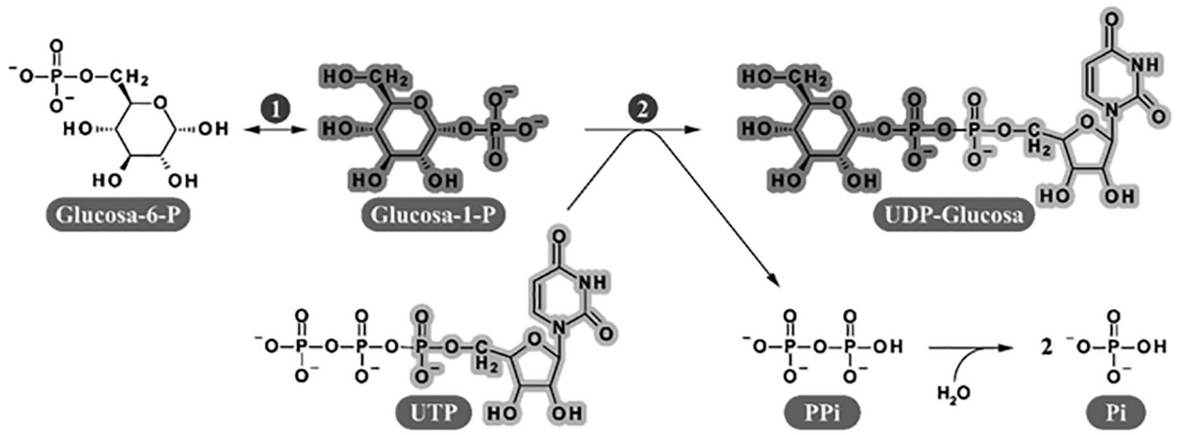


Figura 5.6. Formación de la UDP-glucosa

Las enzimas que intervienen son: [1] fosfoglucomutasa, y [2] UDP-glucosa pirofosforilasa. UDP, uridina difosfato; UTP, uridina trifosfato; PPi, pirofosfato inorgánico; Pi, fosfato inorgánico.

de su propia reacción; o sea, es sustrato y, al mismo tiempo, enzima. Después, la glucógeno sintetasa se une a la glucogenina para formar un complejo en el cual se van uniendo otras glucosas sobre la primera hasta tener un número suficiente (mayor de siete), momento en que la glucógeno sintetasa es liberada del complejo.

Regulación de la glucogénesis y de la glucogenólisis

La síntesis y la degradación del glucógeno son procesos que están recíprocamente regulados por la acción hormonal: la insulina estimula la síntesis, mientras que la adrenalina y el glucagón estimulan la degradación. Las hormonas regulan la actividad de las enzimas controladoras de los procesos mediante modificaciones covalentes. La enzima glucógeno sintetasa existe en dos formas, dependiendo de su estado de fosforilación: la forma activa desfosforilada, llamada glucógeno sintetasa *a*, y la forma inactiva fosforilada, llamada glucógeno sintetasa *b*. La fosforilación (inactivación) de la sintetasa es realizada por una proteína quinasa, y la desfosforilación (activación) por una fosfoproteína fosfatasa. Las acciones de la proteína quinasa y de la fosfoproteína fosfatasa son reguladas por acción hormonal: la insulina actúa estimulando la desfosforilación de la glucógeno sintetasa, tornándola activa y favoreciendo la síntesis de glucógeno. El receptor de la insulina es una proteína quinasa que se autofosforila y contiene dos cadenas *a* idénticas, las cuales quedan expuestas en el exterior de la membrana plasmática y son el sitio de unión de la insulina, y dos cadenas *b* del lado citosólico de la membrana con capacidad fosforilante. La proteína quinasa autofosforilada por acción de la insulina queda activada para fosforilar otras proteínas que van a causar los efectos intracelulares de la insulina, alterando la actividad de una o más enzimas.

La degradación del glucógeno es regulada por una enzima también sensible a la acción hormonal, la glucógeno fosforilasa, de forma inversa a la regulación que ocurre en la glucógeno sintetasa. Así, la fosforilasa debe estar fosforilada para estar activa, esto es, para catalizar la degradación del glucógeno. La fosforilación de la fosforilasa se realiza por una proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (cAMP). El cAMP es producido a partir de ATP por acción de la enzima adenilciclasa, presente en la membrana plasmática. Esta enzima de membrana es activada por la interacción de la adrenalina o del glucagón con su respectivo receptor en la membrana. El cAMP activa las proteínas quinasas para que estas fosforilen la fosforilasa quinasa. Esta, a su vez, fosforila la fosforilasa, volviéndola activa. Las condiciones reguladoras del metabolismo del glucógeno se presentan en la **Tabla 5.2**.

Tabla 5.2 Condiciones metabólicas en la síntesis y degradación del glucógeno

Evento	Síntesis	Degradación
Estado muscular	Reposo	Contracción
Estado hepático	Glucogénesis (↑ ATP)	Glucogenólisis (↓ ATP)
Condición metabólica	↑ Glucosa-6-fosfato	↓ Glucosa-6-fosfato
Hormona actuante	Insulina (↓ cAMP)	Glucagón (↑ cAMP)
Efecto hormonal	↓ Gluconeogénesis	↑ Gluconeogénesis

Metabolismo de la glucosa

La importancia de la glucosa en el metabolismo está relacionada con las siguientes funciones: (a) fuente de energía para todas las células, en especial para el tejido nervioso, los eritrocitos, la médula renal, los testículos y los tejidos embrionarios; (b) fuente de glicerol-3-fosfato para la biosíntesis de triglicéridos en el tejido adiposo; (c) mantener la adecuada concentración de los intermediarios del ciclo de Krebs; (d) fuente de energía para la contracción del músculo esquelético en condiciones aeróbicas y anaeróbicas; (e) precursora de la lactosa en la glándula mamaria; (f) única fuente de energía para el feto durante la gestación; (g) fuente de ácido ascórbico en la mayoría de los mamíferos; (h) fuente de compuestos conjugantes para permitir la solubilización de productos finales del metabolismo y de productos exógenos. Al efecto de cumplir parte de esas funciones la glucosa puede ser oxidada mediante varias vías posibles: la ruta más común es la oxidación vía glucólisis, para producir piruvato en condiciones aeróbicas o lactato en condiciones anaeróbicas; también puede seguir una oxidación alternativa vía pentosas fosfato o vía ácido ascórbico. En condiciones de balance energético positivo la glucosa se almacena en forma de glucógeno.

Rutas oxidativas de la glucosa: glucólisis

La glucólisis fue la primera vía metabólica en ser dilucidada. Los trabajos fueron iniciados por Büchner, en 1897, con el descubrimiento de la fermentación alcohólica de la glucosa por las levaduras, y terminaron con la total elucidación de la vía por Lipmann y Kalckar, en 1941. En algunos tejidos de mamíferos, como los eritrocitos, el cerebro, la médula renal y los espermatozoides, la glucosa es la única fuente de energía. Otros tejidos pueden usar alternativamente combustibles tales como cuerpos cetónicos o ácidos grasos. La glucosa suministra energía a las células a través de la ruta oxidativa de la glucólisis, constituyendo la más importante vía catabólica de la glucosa. La glucólisis puede ser aeróbica o anaeróbica, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en las células. En los animales superiores ocurre generalmente glucólisis aeróbica. Sin embargo, existen algunas células en los animales con capacidad para realizar glucólisis anaeróbica, como los eritrocitos, las células del músculo estriado, la retina y el cerebro. La glucólisis es realizada en el citosol y su producto final es el piruvato, en condiciones aeróbicas, o el lactato, en condiciones anaeróbicas. Hasta la formación del piruvato la glucólisis aeróbica consta de diez reacciones. Puede considerarse que la vía está compuesta por dos fases: (a) fase preparatoria, en la cual la glucosa es fosforilada y convertida en su isómero fructosa, terminando con la quiebra de esta molécula para formar dos triosas fosfato (**Figura 5.7A**), y (b) fase oxidativa, en la que se produce ATP mediante el aprovechamiento de la energía de oxidación para fosforilar ADP (**Figura 5.7B**).

Fase preparatoria de la glucólisis

Para ingresar en cualquier vía metabólica la glucosa debe ser fosforilada en el interior de la célula. La reacción es catalizada en todas las células por la enzima hexoquinasa y constituye la primera reacción de la glucólisis. El hígado, que recibe vía portal la mayoría de los sustratos absorbidos en el intestino, posee un mecanismo especial para poder absorber glucosa en grandes cantidades durante el período posprandial, mediante la enzima glucoquinasa. Las enzimas hexoquinasa y glucoquinasa catalizan la misma reacción de fosforilación de la glucosa (**Figura 5.7A**, paso 1). Las dos enzimas requieren Mg^{2+} como cofactor. La hexoquinasa predomina en todas las células, excepto

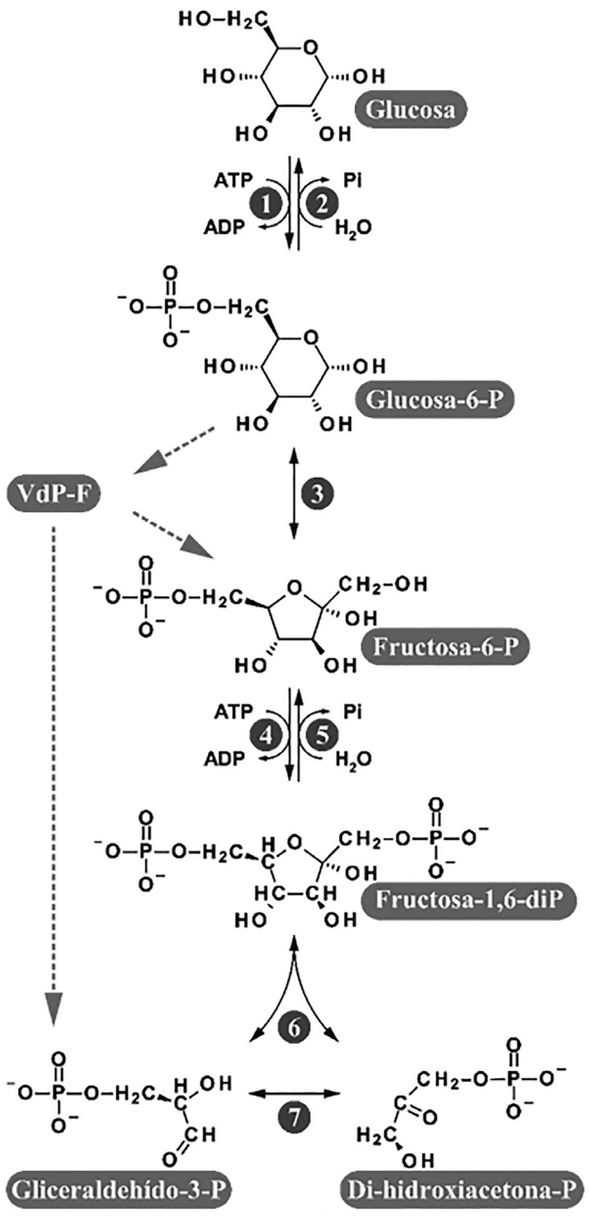


Figura 5.7A. Reacciones de la fase preparatoria de la glucólisis

La ruta glucolítica comprende las etapas 1→3→4→6→7, mientras que la ruta gluconeogénica comprende las etapas 7→6→5→3→2. Las interconexiones con la vía de las pentosas fosfato (VdP-F), que se muestra en la Figura 5-9, están indicadas por flechas punteadas. Las enzimas participantes son: [1] hexoquinasa (glucoquinasa en el hígado), [2] glucosa-6 fosfatasa, [3] fosfoglucosa isomerasa, [4] fosfofructoquinasa, [5] difosfofructosa fosfatasa, [6] aldolasa, y [7] triosafosfato isomerasa.

en los hepatocitos, y tiene especificidad relativa, o sea, puede fosforilar cualquier hexosa, mientras que la glucoquinasa es exclusiva del hígado y tiene como único sustrato la glucosa (especificidad absoluta). Los rumiantes, que absorben cantidades mínimas de glucosa por vía intestinal, no poseen la glucoquinasa. La diferencia entre hexoquinasa y glucoquinasa está determinada por sus características cinéticas: (a) la constante de Michaelis (K_M) de la hexoquinasa es cien veces menor que la K_M de la glucoquinasa (0,1 y 10 mM, respectivamente); (b) la hexoquinasa es inhibida por el producto de la reacción (glucosa-6-fosfato), mientras que la glucoquinasa no sufre esta inhibición. Esas características hacen que la hexoquinasa no actúe en concentraciones de glucosa superiores a l mM y la glucoquinasa solamente se satura con concentraciones de glucosa mayores de 12 mM. La concentración media de glucosa en la sangre periférica está entre 4 y 5 mM. La concentración de glucosa en la sangre portal en estado posprandial puede ser hasta dos veces mayor. La hexoquinasa es una de las enzimas regulatorias de la vía glucolítica, siendo inhibida por su producto, la glucosa-6-fosfato, que actúa como modulador negativo.

Fase oxidativa de la glucólisis

En la fase preparatoria de la glucólisis se forman dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato por cada molécula de glucosa, las cuales entran en la fase oxidativa o fase productora de energía de la glucólisis hasta piruvato (**Figura 5.7B**). En esta fase se produce una molécula de NADH y dos de ATP por cada molécula de gliceraldehído-3-fosfato.

Glucólisis anaeróbica

En condiciones anaeróbicas o en células sin mitocondrias (eritrocitos) el piruvato es reducido a lactato a fin de consumir el NADH producido en la fase oxidativa, para que la ruta no se detenga por acúmulo de esta coenzima reducida, que no puede ser reoxidada en condiciones anaeróbicas (**Figura 5.7B**, paso 13). La enzima que cataliza esta reacción, lactato deshidrogenasa (LDH), existe en cinco formas isoenzimáticas que tienen el mismo peso molecular y están formadas por cuatro subunidades de 33,5 kDa cada una. Las subunidades tienen dos formas posibles: forma H, predominante en músculo cardíaco, y forma M, predominante en músculo esquelético. Así, las cinco isoenzimas pueden ser M_4, M_3H, M_2H_2, MH_3 o H_4. Cada una de ellas se diferencia por la velocidad de reacción y por la K_M. Las isoenzimas con predominancia de forma

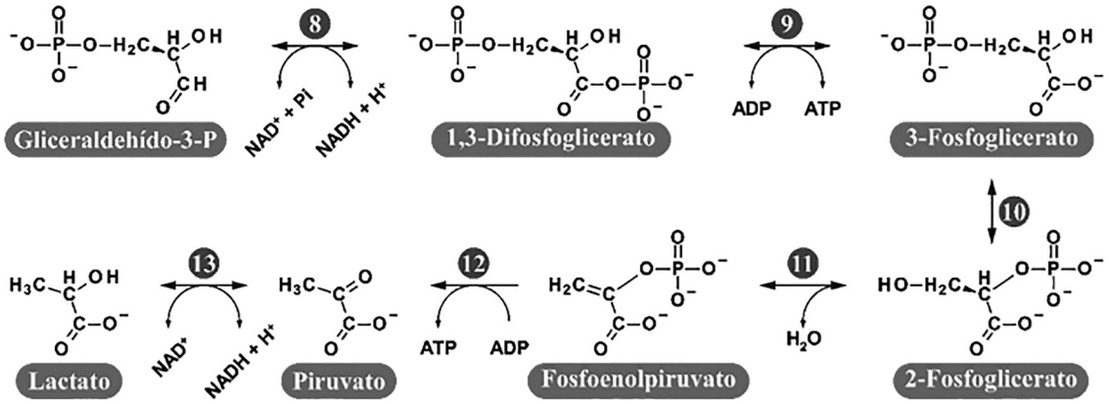


Figura 5.7B. Reacciones de la fase oxidativa de la glucólisis

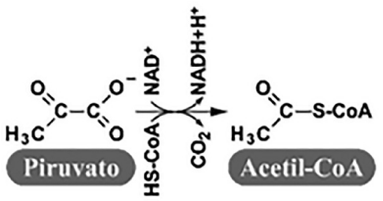
La ruta glucolítica comprende las etapas 8→9→10→11→12→13, mientras que la ruta gluconeogénica comprende las etapas 11→10→9→8. Las enzimas que intervienen son: [8] gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, [9] fosfoglicerato quinasa, [10] fosfoglicerato mutasa, [11] enolasa, [12] piruvato quinasa y [13] lactato deshidrogenasa. La glucólisis aeróbica termina en el piruvato. La reacción 13 ocurre apenas en situaciones de anaerobiosis.

M tienen menor valor de K_M y mayor velocidad de reacción, y las que tienen predominancia de forma H tienen mayor valor de K_M y menor velocidad de reacción. Los niveles sanguíneos de LDH pueden estar aumentados anormalmente en casos de lesión hepática o de músculo cardiaco. Casos de lesiones específicas pueden ser identificados mediante la caracterización de las formas isoenzimáticas de LDH por electroforesis. El lactato no puede ser utilizado por las células en condiciones anaeróbicas y, por tanto, debe seguir para la sangre e ir al hígado, único órgano capaz de utilizarlo, sea para oxidarlo completamente hasta CO_2 y H_2O para producción de energía, sea para utilizarlo como precursor de glucosa en la ruta de la gluconeogénesis. La glucosa nueva producida en el hígado puede retornar al músculo o a los eritrocitos para ser utilizada como combustible. Ese reciclaje del lactato se conoce como 'ciclo de Cori'.

Destino del piruvato

El producto final de la glucólisis, el piruvato, puede seguir esencialmente tres rutas:

(a) En condiciones aeróbicas, el piruvato es oxidado y descarboxilado en la mitocondria para generar acetil-CoA, que puede ser oxidado completamente en el ciclo de Krebs hasta CO_2 y H_2O, con producción de energía (ATP). La reacción de descarboxilación/oxidación del piruvato es indispensable para que este ciclo ocurra. Esa reacción es catalizada por la piruvato deshidrogenasa, un complejo con peso molecular total de 7.000 kDa, compuesto por tres enzimas y cinco coenzimas. La reacción ocurre en cinco etapas, pero en general se puede escribir así:



La piruvato deshidrogenasa es una enzima alostérica y tiene como moduladores positivos ADP y $Ca^{2+,}$ y como modulador negativo ATP. Las tres enzimas del complejo son piruvato deshidrogenasa (E_1), di-hidrolipoil-transacetilasa (E_2) y di-hidrolipoil-deshidrogenasa (E_3), esta última una flavoproteína. Las cinco coenzimas son: tiamina pirofosfato (TPP), NAD, FAD, coenzima A y lipoil-lisina.

(b) En células bajo condiciones anaeróbicas o en ciertas células del organismo, el piruvato sufre reducción para producir lactato, utilizando el NADH generado en la fase oxidativa. Esta reacción ocurre obligatoriamente en los eritrocitos, células que, a pesar de tener medio aeróbico, carecen de mitocondrias. También ocurre

eventualmente en el músculo esquelético durante el ejercicio prolongado y en otros tejidos, como la retina, o en situaciones patológicas que causan hipoxia, como en anemia severa o disturbios pulmonares o circulatorios.

(c) En ciertas condiciones metabólicas el piruvato puede servir de precursor de otros compuestos, como aminoácidos y glucosa (gluconeogénesis).

Ruta alternativa de oxidación de la glucosa: vía de las pentosas fosfato

La principal ruta de oxidación de la glucosa es la glucólisis, pero existen rutas alternativas o secundarias que producen metabolitos intermediarios necesarios para la célula. La vía de las pentosas fosfato, también conocida como ruta del fosfogluconato, es una ruta alternativa de oxidación de la glucosa (**Figura 5.8**). Así como la glucólisis, la vía de las pentosas fosfato también se realiza en el citosol, con las siguientes finalidades metabólicas: (a) generar potencial de reducción extramitocondrial en la forma de NADPH, coenzima necesaria para la biosíntesis reductiva de varias biomoléculas, en especial ácidos grasos y esteroides, principalmente en hígado, glándula mamaria y córtex adrenal; en el eritrocito la NADPH participa en la reducción del peróxido de hidrógeno que se forma debido a la presencia de oxígeno; (b) generar ribosa-5-fosfato, necesaria para la biosíntesis de los ácidos nucleicos; (c) metabolizar las pentosas que ingresan en el metabolismo procedentes de sustratos alimenticios, para que puedan entrar en la vía glucolítica como hexosas.

La vía de las pentosas fosfato puede ser visualizada como la oxidación de tres moléculas de glucosa (3 × 6 C = 18 C) cuyos productos finales son tres moléculas de CO_2 (3 × 1 C = 3 C) y tres moléculas de la pentosa ribulosa-5-P (3 × 5 C = 15 C). Estas tres moléculas pueden transformarse, finalmente, en dos moléculas de fructosa-6-P (2 × 6 C = 12 C) y una molécula de gliceraldehído-3-P (1 × 3 C = 3 C), las cuales pueden retornar a la ruta glucolítica (**Figura 5.7A**). Bajo algunas condiciones metabólicas la ruta puede terminar aquí, pues están cumplidos los objetivos metabólicos de producir NADPH y ribosa. En otras circunstancias metabólicas, cuando son bajas las necesidades de ribosa o de NADPH, la ruta puede proseguir para una segunda fase constituida por transformaciones reversibles entre aldosas y cetosas.

La ruta del fosfogluconato es bastante activa en el eritrocito, donde tiene como objetivo prevenir la oxidación de los ácidos grasos insaturados de la membrana plasmática, situación debida a la intensa interacción de la membrana con moléculas de O_2, y para mantener el estado reducido del átomo de hierro de la hemoglobina (estado ferroso, Fe^{2+}). Esas reducciones están garantizadas por la producción de NADPH en la vía de las pentosas-fosfato. La coenzima NADPH es necesaria para la acción de la enzima glutatión reductasa, que reduce el glutatión oxidado (**Figura 5.9**). El glutatión es un tripéptido (γGlu-Cys-Gly) que impide la oxidación de los ácidos grasos de la membrana, causada por el aumento en los niveles de H_2O_2, a expensas de su propia oxidación. Esta oxidación del glutatión es catalizada por la enzima glutatión peroxidasa, teniendo como cofactor el selenio.

Ruta alternativa de oxidación de la glucosa: ruta del glucuronato

La glucosa puede ser oxidada por otra vía secundaria que lleva a la formación de glucuronato y, eventualmente, a ácido L-ascórbico o vitamina C. El glucuronato es un importante compuesto que participa en la detoxificación y excreción de sustancias orgánicas. Esta vía se inicia con la formación de UDP-glucosa (**Figura 5.6**) que posteriormente es convertida en glucuronato.

El glucuronato puede actuar como agente desintoxicante en el catabolismo, pues puede ser conjugado con diferentes metabolitos a fin de facilitar la excreción de la sustancia mediante el aumento de su polaridad y, por tanto, de su solubilidad, a ejemplo de lo que ocurre en la metabolización de la bilirrubina (**Figura 3.7**). Otra alternativa es actuar como molécula precursora del ácido L-ascórbico o vitamina C. Primates, cobayos, murciélagos y algunos peces y aves, carecen de la gulonolactona oxidasa, una de las enzimas de la síntesis del ácido L-ascórbico (**Figura 5.10**) y dependen de la dieta para suplir sus necesidades de vitamina C.

La oxidación total del acetil-CoA: ciclo de Krebs

Entre los procesos oxidativos de las moléculas orgánicas destinados a la obtención de energía en las células, existen aquellos que corresponden a la oxidación total,

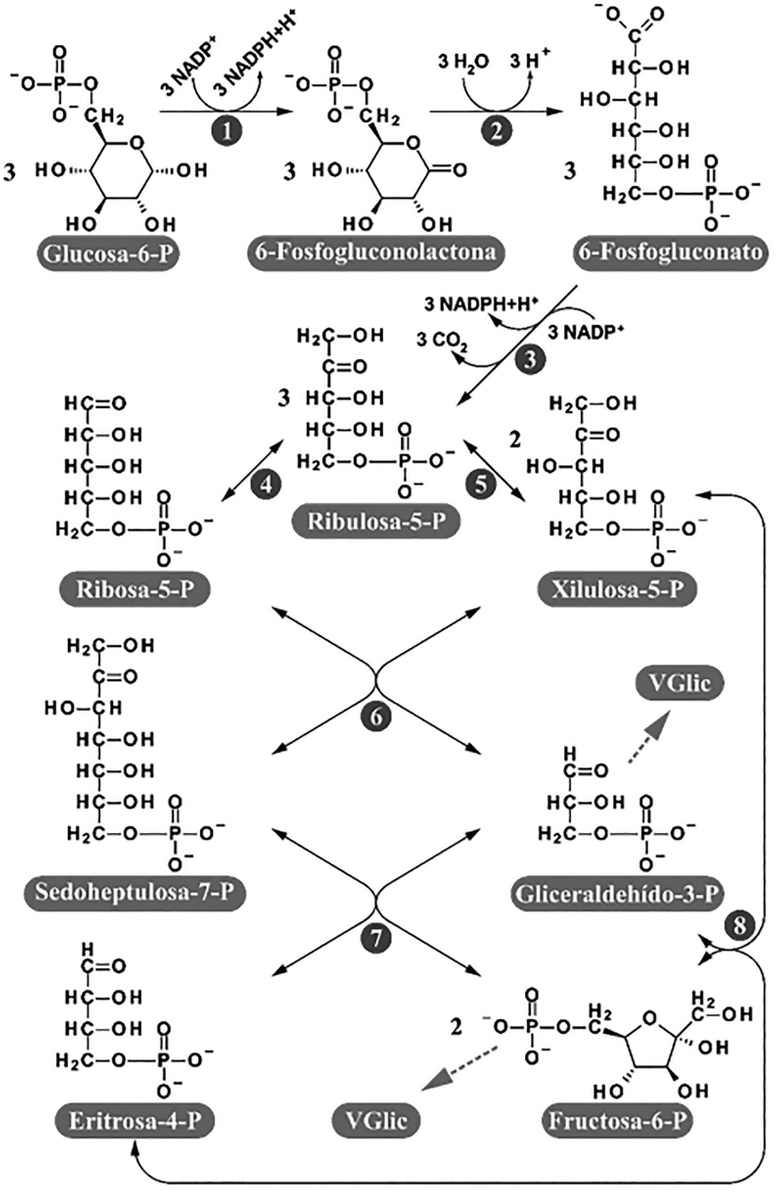


Figura 5.8. Vía de las pentosas fosfato

Además del papel importante en la generación de NADPH + H^+, esta vía también sirve en la generación de ribosa-5-fosfato para la síntesis *de novo* de nucleótidos de ADN y ARN. Las interconexiones con la vía glicolítica (VGlic), que se muestra en la Figura 5.7A, están indicadas por flechas punteadas. Las enzimas participantes son: [1] glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, [2] 6-fosfogluconolactonasa, [3] 6-fosfogluconato deshidrogenasa, [4] ribulosa-5-fosfato isomerasa, [5] ribosa-5-fosfato epimerasa, [6] transcetolasa [7] transaldolasa y [8] transcetolasa.

en que ocurre el consumo final del O_2 en el organismo. Tales procesos son conocidos como 'respiración celular'. En esos procesos el acetil-CoA proveniente de la oxidación de los glúcidos, de los ácidos grasos y de algunos aminoácidos, entra en el ciclo de Krebs para su oxidación total hasta CO_2. Esta vía metabólica, también conocida como ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo del ácido cítrico, fue propuesta por Hans Krebs en 1937. La energía obtenida a partir de la oxidación del acetil-CoA es conservada en la forma de coenzimas reducidas, NADH y $FADH_2$, las cuales, en procesos secuenciales, ceden sus electrones a varias moléculas

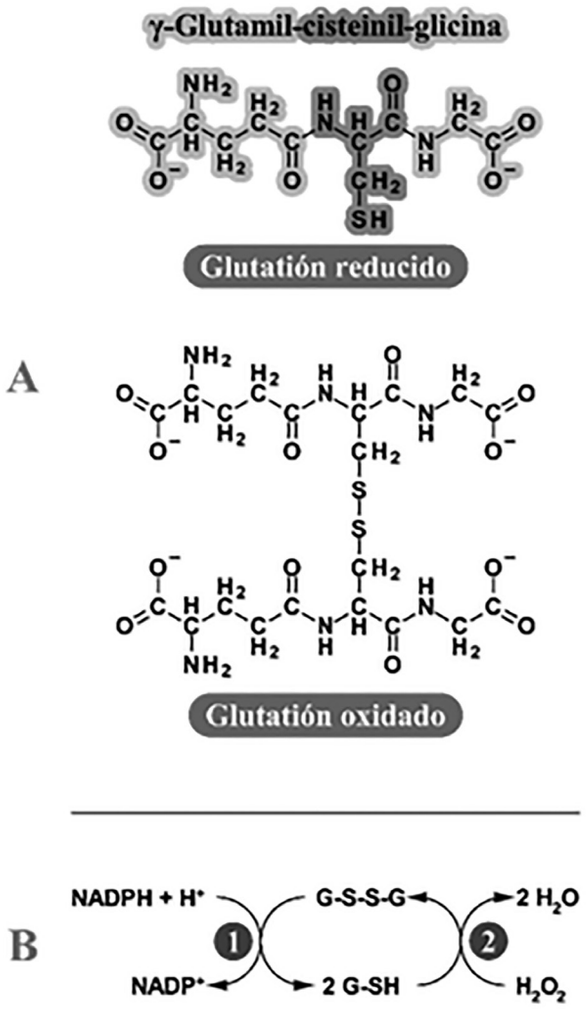


Figura 5.9. Estructura y función del glutatión

El glutatión es un tripéptido compuesto por los aminoácidos glutamato, cisteína y glicina, que presenta actividad antioxidante. En A se muestran las estructuras de la forma reducida y de la forma oxidada; en B, las reacciones en las cuales dos moléculas de glutatión reducido (G-SH) son oxidadas y transfieren dos átomos de hidrógeno para el peróxido de hidrógeno, que es convertido en dos moléculas de agua. Posteriormente, el glutatión oxidado (G-S-S-G) puede ser nuevamente reducido a costa del NADPH + H^+. Las enzimas mostradas en B son: [1] glutatión reductasa y [2] glutatión peroxidasa.

receptoras en la llamada cadena respiratoria, para reducir el O_2 y producir energía y H_2O. En los procesos de oxidorreducción consecutivos realizados en la cadena respiratoria se libera energía, que es aprovechada en un proceso acoplado llamado fosforilación oxidativa, con producción de ATP. Así, el ciclo de Krebs, junto con la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa, forman parte de la respiración celular, en la cual se produce la mayor parte del ATP del organismo. El ciclo de Krebs es realizado por un complejo multienzimático localizado en la matriz mitocondrial y en la membrana mitocondrial interna, donde ocurren ocho reacciones enzimáticas (**Figura 5.11A**).

Los compuestos intermediarios del ciclo deben estar en concentraciones adecuadas para que el ciclo pueda ocurrir. En la primera reacción del ciclo el oxalacetato (OAA) se condensa con acetil-CoA para formar ácido cítrico. El OAA constituye uno de los principales compuestos limitantes de la velocidad con que el ciclo se realiza. Todos los compuestos intermediarios pueden eventualmente salir del ciclo y servir como precursores de otras moléculas en determinadas condiciones metabólicas. De las ocho reacciones del ciclo, cuatro son oxidaciones que llevan a la formación de coenzimas reducidas. En cada vuelta del ciclo se puede considerar que, virtualmente, el acetil-CoA es oxidado hasta dos moléculas de CO_2 y una de H_2O, siendo producidas también tres moléculas de NADH + H^+ y una de $FADH_2$, además de una molécula de GTP, equivalente a un ATP (**Figura 5.11B**).

Regulación del ciclo de Krebs

La regulación del ciclo de Krebs es bastante compleja y tiene los siguientes puntos de control: (1) complejo piruvato deshidrogenasa, cuya reacción es responsable de la producción de acetil-CoA. Este complexo enzimático es regulado alostérica y covalentemente. El control alostérico ocurre debido a la inhibición ejercida por el ATP, a los productos de la reacción (acetil-CoA y NADH) y a los ácidos grasos de cadena larga, así como a la estimulación ejercida por AMP y por NAD^+. Eso significa que el complejo es inhibido cuando hay oferta de combustibles en la célula, y activado cuando faltan. El control covalente, segundo nivel de regulación del complejo, ocurre mediante fosforilación reversible de la enzima E_1, por una proteína quinasa específica que causa inactivación del complejo enzimático. El complejo piruvato deshidrogenasa es activado mediante desfosforilación por una fosfoproteína fosfatasa específica. La fosforilación (inhibición) del complejo ocurre a expensas del ATP, hecho coherente con la regulación alostérica, pues el ATP es modulador negativo del complexo. (2) Enzima citrato sintetasa y sus dos sustratos, acetil-CoA y oxalacetato. El ATP inhibe la enzima, y el ADP revierte la inhibición. El citrato, producto de la reacción, es un metabolito que

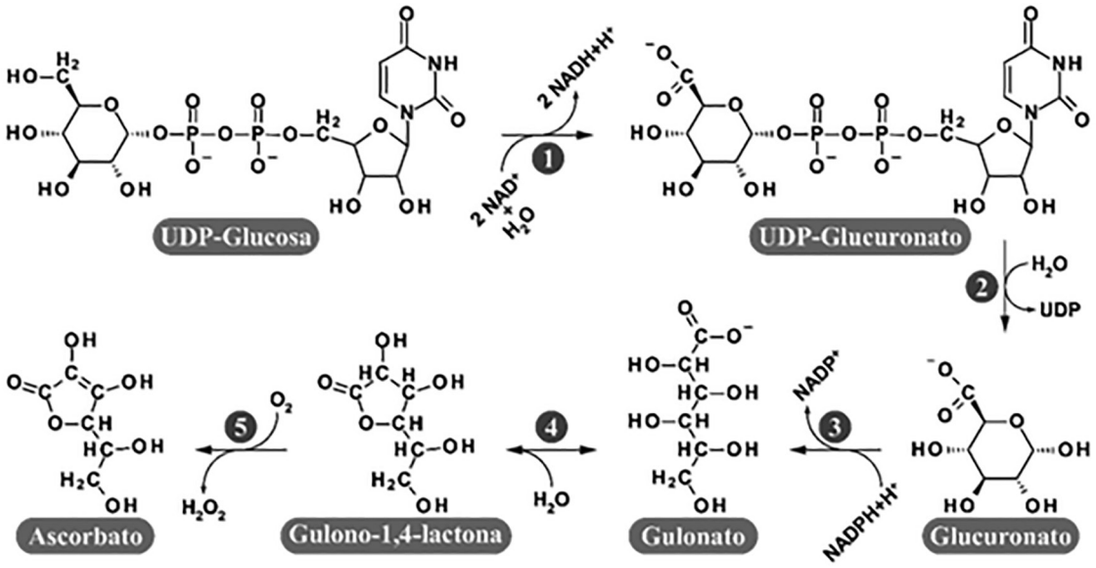


Figura 5.10. Formación del glucuronato y del ácido ascórbico

Las etapas previas a la biosíntesis de la UDP-glucosa se muestran en la Figura 5.6. Los primates, las cobayas (*Cavia porcellus*) y los murciélagos no tienen actividad de la enzima gulonolactona oxidasa, por lo que dependen de la vitamina C de la dieta. Las enzimas participantes son: [1] UDP-glucosa deshidrogenasa, [2] UDP-glucuronidasa, [3] glucuronato reductasa, [4] gulonolactonasa y [5] gulonolactona oxidasa.

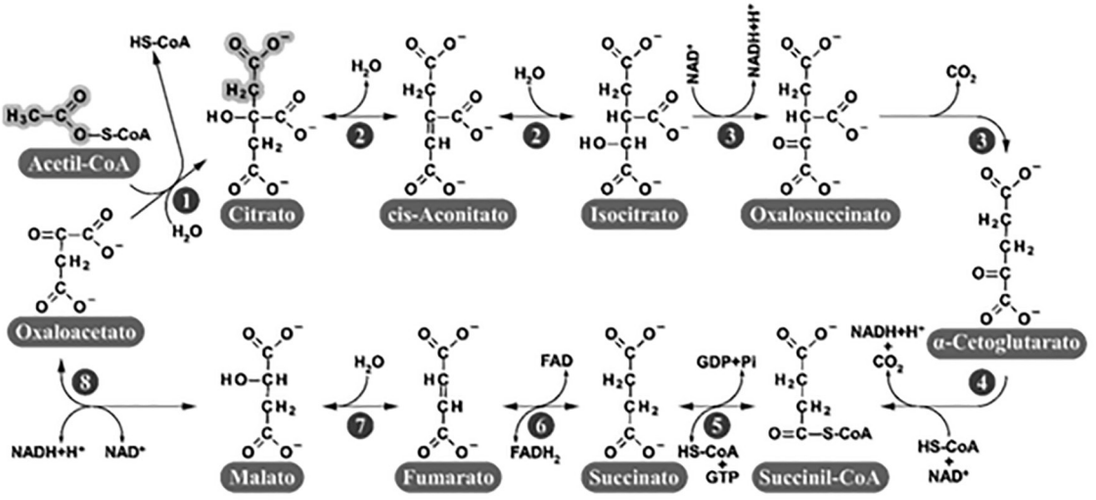


Figura 5.11A. Ciclo de Krebs

GDP, guanosina difosfato; GTP, guanosina trifosfato; Pi, fosfato inorgánico. Las enzimas participantes son: [1] citrato sintetasa, [2] aconitasa, [3] isocitrato deshidrogenasa, [4] α-cetoglutarato deshidrogenasa, [5] succinil-CoA sintetasa, [6] succinato deshidrogenasa, [7] fumarasa, y [8] malato deshidrogenasa.

puede salir para el citosol y funcionar como modulador alostérico negativo de la glucólisis, afectando la actividad de la enzima PFK-1. (3) Enzimas isocitrato deshidrogenasa y cetoglutarato deshidrogenasa. Estas enzimas catalizan reacciones altamente exergónicas en el ciclo de Krebs, estando comprometidas en reacciones de oxidorreducción. (4) Concentración de los metabolitos intermediarios, la cual está en función de las necesidades metabólicas del organismo y la disponibilidad de nutrientes.

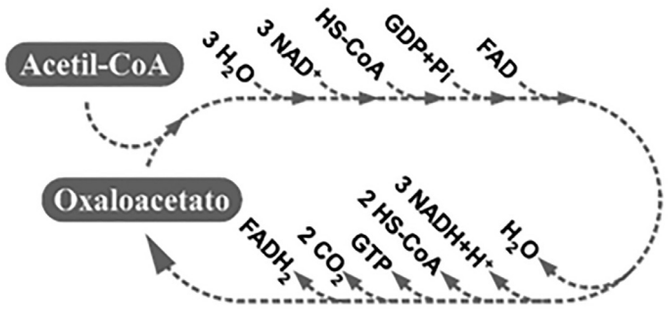
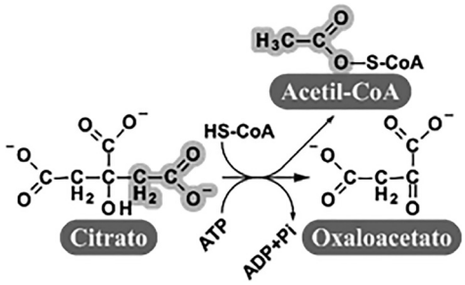


Figura 5.11B. Esquema general del ciclo de Krebs

El ciclo de Krebs consume dos moléculas de agua y una molécula de acetil-CoA (equivalente a dos átomos de carbono). Al mismo tiempo se producen tres moléculas de NADH + H^+, una molécula de GTP y una de $FADH_2$. Dos átomos de carbono se eliminan en forma de dos moléculas de CO_2. GDP, guanosina difosfato; GTP, guanosina trifosfato; Pi, fosfato inorgánico.

Carácter anfibólico del ciclo de Krebs

El ciclo de Krebs actúa en el catabolismo oxidando el acetil-CoA, intermediario común en la oxidación de glúcidos, aminoácidos y ácidos grasos, pero también puede actuar en el suministro de precursores de las vías anabólicas, a partir de sus metabolitos intermediarios. Por tener rutas anabólicas que generan compuestos para procesos de biosíntesis y, al mismo tiempo, servir de ruta oxidativa, catabólica, el ciclo de Krebs es una vía anfibólica. Entre ejemplos de compuestos con función anabólica se pueden citar: (a) metabolitos del ciclo de Krebs, como precursores de aminoácidos (**Figura 5.12**); (b) oxalacetato, como precursor de glucosa, en las reacciones de la vía de la gluconeogénesis; (c) precursores de acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos, como la reacción catalizada por la ATP citrato liasa:



Reposición de los intermediarios del ciclo de Krebs

Cuando los intermediarios del ciclo de Krebs están en baja concentración, pueden ser repuestos mediante reacciones anapleróticas o de 'relleno'. Así, pueden ser repuestos el oxalacetato y el malato, intermediarios cuyas concentraciones son limitantes para el funcionamiento del ciclo (**Figura 5.13**).

Balance energético del ciclo de Krebs

Con relación a la producción de energía en el ciclo de Krebs, puede hacerse un balance energético considerando que, por cada molécula de acetil-CoA que entra, se obtienen como productos finales 2 CO_2, 3 NADH, 3 H^+, 1 $FADH_2$ y 1 GTP. El CO_2 es eliminado en la respiración y energéticamente no tiene valor, aunque tenga importancia en el equilibrio ácido-básico.

Las coenzimas reducidas van a la cadena de transporte de electrones para producir energía en una serie de transferencias electrónicas y generar, finalmente, ATP en las reacciones acopladas de la fosforilación oxidativa. En esos procesos, por cada NADH es posible obtener tres ATP, y por cada $FADH_2$ se obtienen dos ATP. Así, por cada dos moléculas de acetil-CoA (originadas de una molécula de glucosa) que se oxidan en el ciclo de Krebs, se producen veinticuatro ATP:

6 NADH = 18 ATP
2 $FADH_2$ = 4 ATP
2 GTP = 2 ATP
Total = 24 ATP

Considerando la oxidación total de un mol de glucosa, a través de la glucólisis aeróbica, más la oxidación del piruvato y la del acetil-CoA en el ciclo

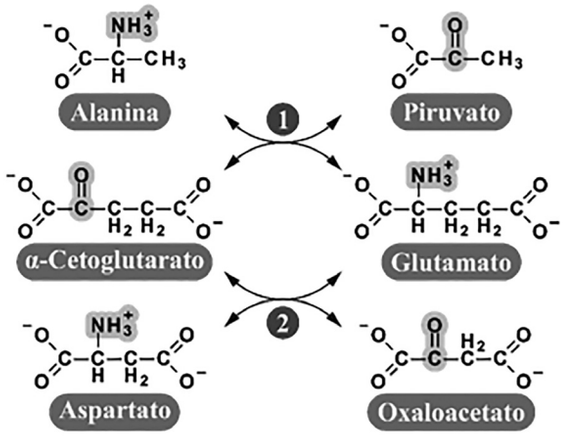


Figura 5.12. Interconversión de intermediarios del ciclo de Krebs y del piruvato en aminoácidos

Los grupos amino (de los aminoácidos) y ceto (de los α-cetoácidos) que son interconvertidos están resaltados en fondo gris. Es importante señalar que las dos reacciones son independientes, presentadas en conjunto para resaltar el papel central del α-cetoglutarato y del glutamato. Las enzimas participantes son: [1] alanina aminotransferasa (ALT) y [2] aspartato aminotransferasa (AST).

de Krebs, la producción total de ATP obtenida en los tres procesos es la siguiente:

2 ATP + 2 NADH = 8 ATP (glucólisis aeróbica, 1 glucosa)

2 NADH = 6 ATP (oxidación del piruvato, 2 piruvatos)

24 ATP (ciclo de Krebs, 2 acetil CoA)

Total = 38 ATP

Haciendo el balance energético de la oxidación total de la glucosa en las células, se tiene que la generación de 38 ATP consume: 38 × 30,5 kJ/mol = 1.159 kJ/mol. Considerando que la energía de combustión total de la glucosa liberada en un calorímetro es de 2.840 kJ/mol, significa que el proceso de oxidación de la glucosa en las células representa una eficiencia de conservación de la energía de ≈ 41 % (1.159/2.840).

Cadena respiratoria: la síntesis de ATP

La fosforilación oxidativa es la síntesis de ATP realizada en la mitocondria, gracias a la energía proveniente del transporte de electrones entre moléculas receptoras y donadoras, en reacciones de oxidorreducción. Tales electrones, a su vez, provienen de los procesos oxidativos de las vías catabólicas de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos. Los procesos de fosforilación oxidativa y transporte de electrones ocurren simultáneamente y de forma acoplada, o sea, el flujo de electrones presiona para que la fosforilación ocurra. Esta constituye la fuente de ATP más importante en el organismo animal (**Figura 5.14**). Existe otra forma de producción de ATP que se realiza en otras vías en el citosol o en la mitocondria que, comparativamente con la cadena respiratoria, contribuye con poco ATP. Esta forma de fosforilación utiliza la energía de hidrólisis de los compuestos fosfatados o sulfatados de alta energía, o sea, aquellos en que la energía de hidrólisis de los grupos fosfato o sulfato es mayor que la energía de hidrólisis del ATP (mayor de 30 kJ/mol). Los principales compuestos son el 1,3-difosfoglicerato, el fosfoenolpiruvato y el succinil-CoA.

La cadena respiratoria (cadena de transporte de electrones + fosforilación oxidativa) envuelve la reducción del O_2 a H_2O utilizando los electrones donados por NADH y $FADH_2$. En estos procesos se realiza la utilización final del oxígeno (respiración celular). Las enzimas de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa se localizan en la membrana interna de la mitocondria, la cual es impermeable a moléculas pequeñas y a la mayoría de los iones, incluyendo H^+. Las coenzimas reducidas (NADH, NADPH, $FMNH_2$ y $FADH_2$) producidas en los procesos oxidativos del citosol y la mitocondria (glucólisis, oxidación del piruvato, ciclo de Krebs, oxidación de los ácidos grasos y oxidación de los aminoácidos) ceden los electrones a una serie de compuestos transportadores que son reducidos y oxidados de forma secuencial, hasta entregar los electrones a su receptor final, el oxígeno, para la producción de agua.

La mayoría de los transportadores son proteínas integradas a la membrana interna mitocondrial con grupos prostéticos capaces de recibir y donar electrones. Cada componente de la cadena recibe electrones de un transportador precedente y los entrega al transportador que le sigue, en una serie de reacciones con secuencia específica (**Figura 5.14**). En los sistemas biológicos existen cuatro tipos de transferencia de electrones: (a) transferencia directa de electrones (ejemplo, reducción de Fe^{3+} en Fe^{2+}); (b) transferencia de un

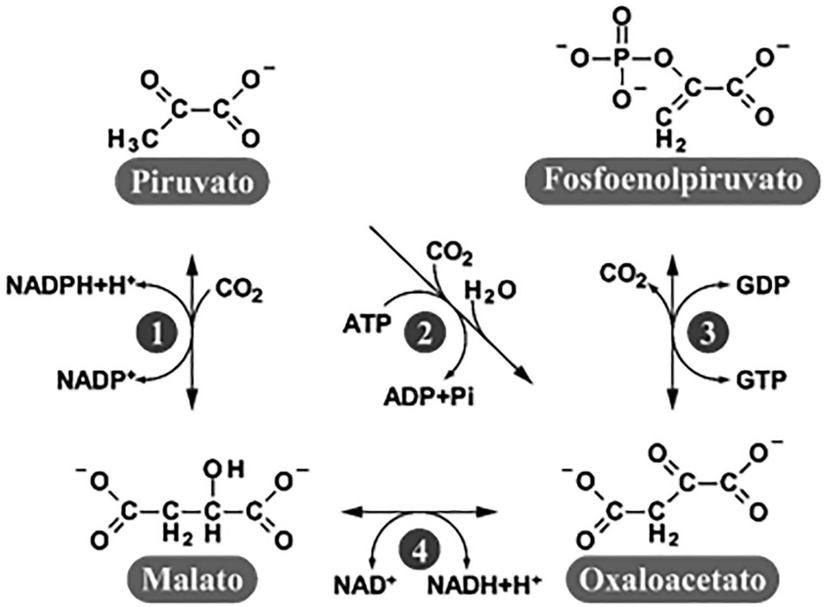


Figura 5.13. Reposición de los intermediarios del ciclo de Krebs

El piruvato y el fosfoenolpiruvato, originados por la vía glucolítica (Figura 5.7B), se pueden utilizar para restablecer el oxalacetato y el malato del ciclo de Krebs. Las enzimas participantes son: [1] enzima málica, [2] piruvato carboxilasa (usando Mn^{2+} como cofactor y biotina como coenzima), [3] fosfoenolpiruvato (PEP) carboxiquinasa, y [4] malato deshidrogenasa.

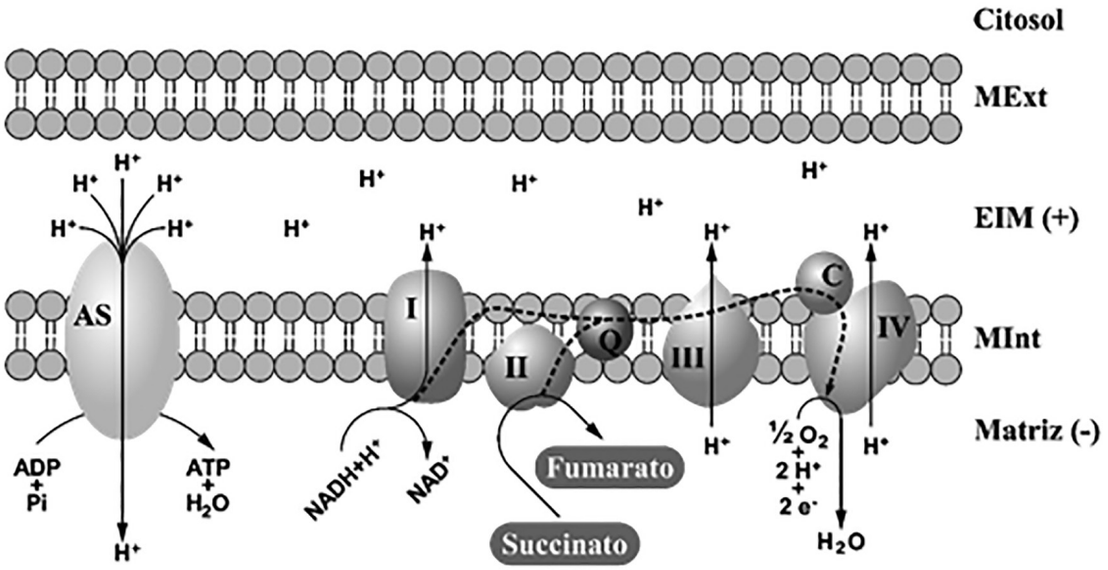


Figura 5.14. Teoría quimiosmótica de la fosforilación oxidativa

Los protones H^+ provenientes de NADH + H^+ y de $FADH_2$ (generados en el ciclo de Krebs) se trasladan al espacio intermembranal de la mitocondria (EIM), generando simultáneamente un potencial eléctrico (donde la matriz mitocondrial acumula carga negativa) y un gradiente de pH (con la matriz mitocondrial alcalina). Los protones H^+ acumulados retornan a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintetasa (AS), siendo la energía de este flujo de protones H^+ utilizada para la fosforilación del ADP por un fosfato inorgánico (Pi), generando ATP. Esencialmente la ATP sintetasa funciona como una turbina movida a protones H^+. Los electrones siguen a través de los diferentes complejos proteicos (I a IV) de la ubiquinona (coenzima Q) y de los citocromos (C), colectivamente llamados cadena transportadora de electrones, presentes en la membrana interna de la mitocondria (MInt), hasta que se transfieren a una molécula de agua (línea punteada). Es este flujo de electrones el que proporciona la energía necesaria para el bombeo de los protones H^+. Mext, membrana externa de la mitocondria; Q, ubiquinona (coenzima Q); C, citocromo.

átomo de H ($H^+ + e^-$); (c) transferencia de un ion hidruro (H^-) que contiene H^+ y $2e^-$; y (d) combinación directa de un reductor orgánico con O_2. De estos tipos de transferencia los tres primeros ocurren en la cadena respiratoria.

Secuencia de la cadena respiratoria

La coenzima reducida NADH es el primer compuesto de la cadena, pues ella concentra los electrones de muchos sustratos de procesos oxidativos celulares. El NADPH transfiere los electrones para NAD^+, formando $NADH + H^+$, en una reacción catalizada por la enzima piridina nucleótido transhidrogenasa:

$$NADPH + NAD^+ \rightarrow NADP^+ + NADH$$

Los electrones (transportados como H) del NADH son recibidos por la ubiquinona o coenzima Q (UQ), una benzoquinona liposoluble presente en todos los animales, cuyo grupo quinona puede estar oxidado o reducido. Como la ubiquinona es una molécula pequeña que puede difundirse fácilmente a través de las membranas, es un eficiente transportador de electrones. La ubiquinona oxidada puede aceptar un electrón y convertirse en una semiquinona radical ($UQH^•$) o aceptar dos electrones y formar la ubiquinona completamente reducida o ubiquinol (UQH_2). La transferencia de electrones del NADH para la ubiquinona requiere la enzima NADH deshidrogenasa, una flavoproteína ferrosulfurada que posee un grupo prostético de FMN (flavina mononucleótido) (complejo I). El FMN recibe los electrones del NADH y los transfiere para los átomos de Fe-S, que los entregan finalmente a la ubiquinona. La reacción catalizada por la NADH deshidrogenasa es la siguiente:

$$NADH + H^+ + UQ \rightarrow NAD^+ + UQH_2$$

Las coenzimas flavínicas reducidas ($FADH_2$, $FMNH_2$) producidas en algunos procesos de oxidorreducción transfieren sus electrones directamente a la ubiquinona, que solo acepta electrones de grupos flavínicos. La enzima que transfiere los electrones de esos grupos flavínicos a la ubiquinona es la succinato deshidrogenasa (complejo II), única enzima del ciclo de Krebs que se encuentra integrada a la membrana interna de la mitocondria. Esta enzima posee un grupo prostético FAD y cuatro centros Fe-S. En las etapas siguientes de la cadena la ubiquinona cede los electrones a una serie de citocromos, proteínas integradas a la membrana interna de la mitocondria, que transfieren electrones a través de sus grupos prostéticos de ferroprotoporfirina IX (grupo hemo), los cuales forman parte de sus estructuras, siendo similares a los núcleos prostéticos de la hemoglobina. Existen tres clases de citocromos (a, b, c), pero en todos ellos el proceso de oxidorreducción se realiza por cambios en la valencia de hierro del grupo hemo:

$$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$$

Los tres tipos de citocromos se diferencian por sus espectros de absorción de luz en la forma reducida (Fe^{2+}). La absorción es mayor a 600 nm en los citocromos *a*, a 560 nm en los citocromos *b* y a 550 nm en los citocromos *c*. La secuencia de transferencia de los electrones en los citocromos en la cadena respiratoria es la siguiente:

$$\text{Citocromo b} \rightarrow c1 \rightarrow c \rightarrow (a{+}a3)$$

El paso de los electrones desde la ubiquinona hasta el citocromo *c* se conoce como complejo citocromo *bc*, o ubiquinona citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III), conteniendo los citocromos b_{562}, b_{566}, c_1, una proteína ferrosulfurada, y por lo menos seis subunidades de otra proteína. Las proteínas están asimétricamente instaladas en la membrana mitocondrial interna. La transferencia de electrones de la ubiquinona a los citocromos deja de ser en pares de H, pasando a ser en electrones simples (e^-). Los protones (H^+) restantes son bombeados para el espacio intermembranal utilizando la energía de la reacción de oxidorreducción y produciendo un gradiente de protones (potencial electroquímico transmembranal) (**Figura 5.14**). El núcleo de hierro de los citocromos no puede ligar el oxígeno, excepto el último citocromo de la cadena (citocromo $a + a_3$), que constituye el receptor biológico del oxígeno al final de la cadena respiratoria. Este citocromo recibe también el nombre de citocromo oxidasa (complejo IV) y consiste de una proteína oligomérica con peso molecular de 200 kDa, cuyo núcleo contiene, además del grupo hemo, dos átomos de Cu^+, responsables de transferir los electrones al O_2. El complejo citocromo oxidasa puede transportar grupos de cuatro electrones que reducen el O_2. El flujo de esos electrones causa un movimiento de protones de la matriz para el espacio intermembranal, contribuyendo para el potencial electroquímico de protones:

$$2\ e^- + \tfrac{1}{2}\ O_2 + 2\ H^+ \text{ (matriz)} \rightarrow H_2O$$

El paso de protones de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal presiona el flujo de más electrones en la cadena y, por tanto, el bombeo de más protones para el espacio intermembranal. El ion cianuro (CN^-) inhibe la reoxidación de la citocromo oxidasa, bloquea la cadena respiratoria y causa anoxia tisular y muerte rápida. El sulfuro de hidrógeno (H_2S) ejerce una acción similar. La secuencia total de la transferencia electrónica desde NADH hasta O_2 es la siguiente:

NADH → UQ → citocromo b → citocromo c1 → citocromo c → citocromo aa3 → O_2

Fosforilación oxidativa

Existen tres puntos de la cadena respiratoria en los cuales se genera suficiente cantidad de energía libre para fosforilar un mol de ADP, ocurriendo también, en esos puntos, formación de gradiente de protones: (a) entre NADH y ubiquinona (complejo I); (b) entre ubiquinona y citocromo c (complejo III); y (c) entre citocromo oxidasa y oxígeno (complejo IV). Los sustratos en los cuales participan flavoenzimas para su oxidación (complejo II) entregan los electrones directamente a la ubiquinona sin producir fosforilación, generando, en el proceso de transferencia hasta el oxígeno, solo dos ATP. El complejo enzimático ATP sintetasa está localizado en la membrana interna de la mitocondria y consta de dos partes denominadas factores F_1 y F_o (**Figura 5.14**). El F_1 fue el primer factor descubierto (por Racker, en la década de 1960), mientras que el F_o sufre inhibición por la oligomicina. El factor F_1 consta de seis subunidades mayores y de tres subunidades menores, localizadas en la periferia de la membrana interna, dirigidas hacia la matriz mitocondrial. La fracción F_o está más integrada a la membrana del lado del espacio intermembranal y es la encargada de transportar los protones envueltos en el gradiente electroquímico del espacio intermembranal al interior de la matriz, transportador necesario pues la membrana interna es impermeable a los protones. La fracción F_o forma un canal a través del cual fluyen pasivamente los protones a favor del gradiente, lo cual genera una fuerza que garantiza la fosforilación del ADP en la matriz de la mitocondria. El modelo actualmente aceptado para la fosforilación oxidativa es el del acoplamiento quimiosmótico, introducido por Mitchell en 1961. Esta teoría señala que el acoplamiento sería realizado por un estado intermediario de aumento de energía, obtenido por un gradiente electroquímico (diferencia eléctrica debida al aumento de H^+ y diferencia química debida a la disminución del pH) que se produce por el bombeo de iones de H^+ al espacio intermembranal a través de la membrana interna de la mitocondria. Los iones H^+ provienen de la cadena respiratoria cuando la ubiquinona entrega los electrones a los citocromos y deja los H^+ libres para ser bombeados. La energía para el bombeo proviene de las variaciones de energía libre en las etapas de la cadena respiratoria. La matriz mitocondrial se vuelve alcalina con relación al espacio intermembranal. El gradiente electroquímico lleva a un estado energizado que impulsa la fosforilación del ADP con participación de la enzima ATP sintetasa F_1F_o, en la membrana interna mitocondrial:

$$ADP + Pi \rightarrow ATP + H_2O$$

Desacopladores e inhibidores de la fosforilación oxidativa

Los agentes desacopladores de la fosforilación oxidativa son sustancias tóxicas que, aunque permiten el transporte de electrones en la cadena respiratoria, desacoplan la transmisión de energía de la cadena electrónica para la fosforilación oxidativa, impidiendo la formación de ATP. Los desacopladores estimulan la actividad de la cadena respiratoria y, por tanto, el consumo de oxígeno. Ejemplos de tales agentes son el 2,4-dinitrofenol, el dicumarol y el CCCP (carbonilcianeto-m-clorofenil-hidrazona). En general, son sustancias liposolubles, con grupo ácido y anillo aromático, que pueden entrar en la matriz mitocondrial e impiden, mediante la disociación de H^+, la formación del gradiente electroquímico. Otro tipo de agentes desacopladores son las sustancias ionóforas, como valinomicina, que causan la degradación del estado de alta energía generado en el gradiente electroquímico, pues permiten el paso de cationes monovalentes como K^+ a través de la membrana interna mitocondrial. Así, la energía generada por la cadena respiratoria debe ser gastada en bombear tales cationes de regreso al interior de la matriz mitocondrial, en vez de facilitar la fosforilación. Esos agentes no detienen la cadena respiratoria y, por tanto, no reducen el consumo de oxígeno.

Los agentes inhibidores de la fosforilación oxidativa son tóxicos que no solo impiden la fosforilación, sino

que también detienen la cadena respiratoria mediante la alteración de sus compuestos intermediarios. De esa forma no puede ser consumido el oxígeno, pues los electrones no llegan a su destinatario final y tampoco se produce ATP. Ejemplos de agentes inhibidores son la oligomicina, la rotenona, la actinomicina A, el cianuro, el ácido sulfhídrico y el monóxido de carbono.

Regulación de la fosforilación oxidativa

La velocidad con que el O_2 es consumido en la respiración celular está en función de la relación ATP/ADP. Cuando el ATP se gasta en los procesos biológicos que demandan energía esta relación disminuye porque aumenta la disponibilidad de ADP, lo cual hace que sea promovida la síntesis de ATP, esto lleva a un aumento en la respiración celular para mantener estable la relación, impidiendo que ocurran grandes fluctuaciones, aun en situaciones de extrema demanda energética. Los niveles de ADP y ATP no solamente controlan la velocidad de la respiración celular, sino también las vías de producción de coenzimas reducidas, como la glucólisis, la oxidación del piruvato y el ciclo de Krebs, actuando como moduladores alostéricos de varias enzimas en esas vías metabólicas.

Gluconeogénesis: biosíntesis de nueva glucosa

La gluconeogénesis, junto con la glucogenólisis, constituyen las dos vías metabólicas mediante las cuales el organismo puede mantener los niveles sanguíneos de glucosa. La gluconeogénesis incluye todas las vías metabólicas destinadas a sintetizar glucosa a partir de piruvato, lactato, propionato, glicerol o aminoácidos. Es un proceso realizado principalmente en el hígado y el riñón. En los rumiantes la gluconeogénesis tiene especial importancia, puesto que la fuente primaria de glucosa es el propionato, ácido graso volátil producto final de la fermentación microbiana de los glúcidos en el rumen.

Gluconeogénesis a partir de piruvato

La conversión de piruvato en glucosa es la vía central de la gluconeogénesis. Esta vía comparte, en sentido inverso, siete de las diez reacciones de la glucólisis. Las tres reacciones restantes, no comunes a la glucólisis, son irreversibles debido a su alta variación de energía libre. Son ellas: (a) conversión de fosfoenolpiruvato (PEP) en piruvato (**Figura 5.7B**, paso 12), (b) conversión de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-difosfato (**Figura 5.7A**, paso 4) y (c) conversión de glucosa en glucosa-6-fosfato (**Figura 5.7A**, paso 1). Para que esas tres reacciones ocurran en sentido inverso, o sea, en el sentido de la gluconeogénesis, deben ser catalizadas por enzimas diferentes de las que actúan en la glucólisis o mediante diversas vías. Esas tres reacciones hacen que las vías de la gluconeogénesis y de la glucólisis sean irreversibles en la célula, siendo reguladas independientemente por enzimas específicas propias para cada ruta. El sentido inverso de las reacciones anteriores se consigue en las células mediante los mecanismos descritos a seguir.

Conversión de piruvato a PEP

Ocurre mediante un bypass (desvío) a través de la mitocondria (**Figura 5.15**). El piruvato entra en la mitocondria, donde es convertido en oxalacetato (OAA), en una reacción de carboxilación que consume ATP, catalizada por la enzima piruvato carboxilasa, que requiere Mn^{2+} como cofactor. Esta enzima es alostérica y estimulada por acetil-CoA y glucocorticoides. El OAA debe ser convertido en malato para poder pasar al citosol. Esa reacción interconversible es catalizada por la enzima malato deshidrogenasa, que usa NAD^+ como coenzima y se encuentra tanto en la mitocondria como en el citosol. El malato en el citosol sufre la reacción inversa para regenerar OAA + NADH, reacción necesaria para extraer NADH de la mitocondria y llevarlo al citosol, donde esta coenzima reducida es escasa, siendo necesaria durante la gluconeogénesis en la etapa de reducción de 1,3-difosfoglicerato a gliceraldehído-3-fosfato. Finalmente, el OAA en el citosol puede ser descarboxilado a PEP por acción de la enzima PEP carboxiquinasa, con gasto de un GTP. Esta última enzima también es estimulada por los glucocorticoides.

Conversión de fructosa 1,6-difosfato en fructosa-6-fosfato

Es realizada por la fructosa-1,6-difosfatasa, enzima alostérica que es modulada positivamente por el 3-fosfoglicerato y el citrato, y negativamente por el AMP (**Figura 5.7A**, paso 5).

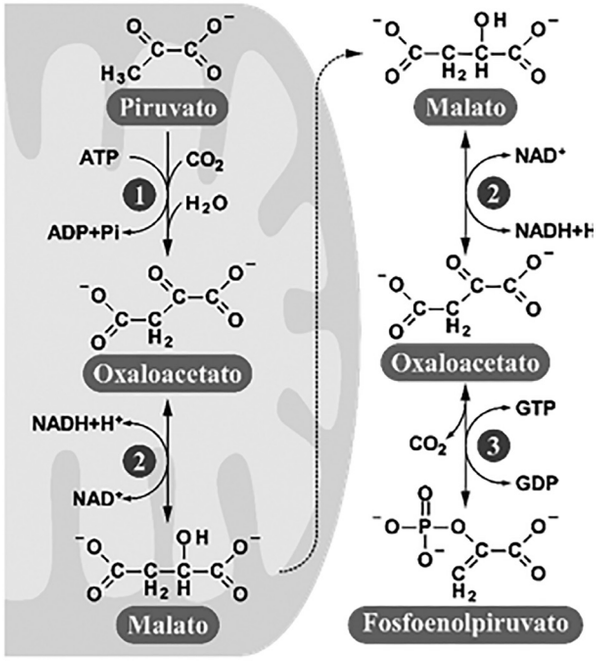


Figura 5.15. Conversión del piruvato en fosfoenolpiruvato (PEP)

Las enzimas participantes son: [1] piruvato carboxilasa, [2] malato deshidrogenasa, [3] fosfoenolpiruvato carboxiquinasa.

Conversión de glucosa-6-fosfato en glucosa libre

Es realizada por la glucosa-6-fosfatasa, enzima presente únicamente en el hígado, el riñón y el epitelio intestinal, que requiere Mg^{2+} como cofactor (**Figura 5.7A**, paso 2). Dado que esta enzima no existe en el cerebro y el músculo, estos tejidos no pueden realizar gluconeogénesis y dependen de la glucosa sanguínea como fuente de energía.

En el proceso de gluconeogénesis se gastan seis grupos fosfato de alta energía, dos ATP y dos GTP, en la conversión de dos moléculas de piruvato hasta PEP y otros dos ATP en la conversión de dos moléculas de 3-fosfoglicerato a dos moléculas de 1,3-difosfoglicerato. También se gastan dos coenzimas reducidas NADH. Cabe recordar que en el proceso inverso de esta vía, o sea la glucólisis, solo se producen dos ATP. La suma de las reacciones desde piruvato hasta glucosa es:

$$2 \text{ piruvato} + 4 \text{ ATP} + 2 \text{ GTP} + 2 \text{ NADH} + 4 \text{ H}_2\text{O}$$
$$\downarrow$$
$$\text{Glucosa} + 4 \text{ ADP} + 2 \text{ GDP} + 6 \text{ Pi} + 2 \text{ NAD}^+ + 2 \text{ H}^+$$

Gluconeogénesis a partir de propionato

Aunque esta ruta ocurre tanto en los monogástricos como en los rumiantes, es de especial importancia en estos últimos animales, pues es utilizada como la más importante fuente de glucosa (**Figura 5.16**).

El propionato, un ácido graso volátil producido por la fermentación ruminal microbiana de los glúcidos, es absorbido en el epitelio ruminal, pasando al hígado, donde ingresa en la ruta gluconeogénica. La ruta del propionato a la glucosa envuelve su ingreso en el ciclo de Krebs hasta formar OAA, precursor gluconeogénico que puede ser convertido en PEP, como fue explicado. Inicialmente el propionato debe ser activado a propionil-CoA por acción de la enzima propionil-CoA sintetasa, la cual tiene Mg^{2+} como cofactor. Después, el propionil-CoA es carboxilado en D-metilmalonil-CoA, por acción de la enzima propionil-CoA carboxilasa, que requiere biotina como cofactor. En esta reacción se consume otro ATP. El producto de la reacción anterior es convertido en su isómero L por una racemasa. El L-metilmalonil-CoA es convertido en otro isómero, el succinil-CoA, intermediario del ciclo de Krebs. Esta reacción es catalizada por la enzima L-metilmalonil-CoA mutasa, que requiere coenzima B_{12} como cofactor. Esta coenzima tiene como precursor la vitamina B_{12}, la cual es sintetizada por los microorganismos del rumen, siendo requerido cobalto, mineral que puede ser limitante en ciertas circunstancias, afectando el metabolismo energético del animal. El succinil-CoA sigue el ciclo de Krebs hasta generar malato, que sale para el citosol y es convertido en OAA, continuando la gluconeogénesis de la misma forma que el proceso a partir de piruvato.

Gluconeogénesis a partir de glicerol

El glicerol se produce a partir de la lipólisis de los triglicéridos en el tejido adiposo, donde no puede ser metabolizado. Debe ser llevado, vía sanguínea, al hígado, donde puede ingresar a la vía gluconeogénica a través de la dihidroxiacetona fosfato, mediante las reacciones que se muestran en la **Figura 5.17**.

Gluconeogénesis a partir de lactato

El lactato se produce en el eritrocito y en el músculo esquelético, como producto final de la glucólisis anaeróbica. Debido a que no puede ser metabolizado

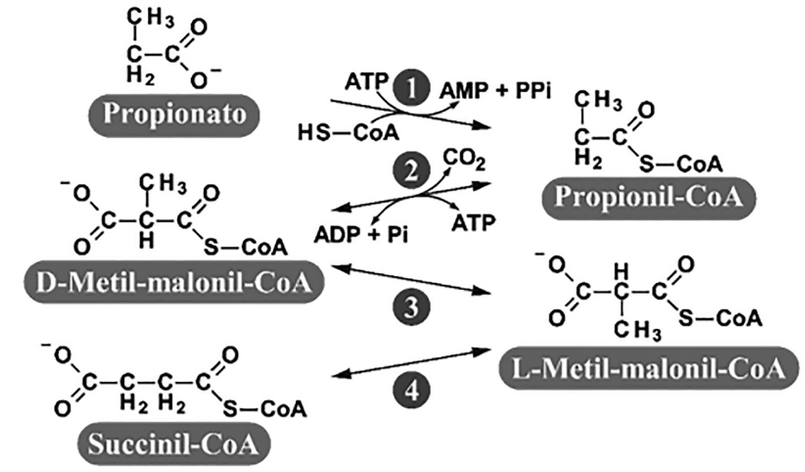


Figura 5.16. Gluconeogénesis a partir del propionato

Esta ruta es de especial importancia en el metabolismo de rumiantes, que utilizan el propionato ruminal como fuente de succinil-CoA, y este a su vez puede ser utilizado para la gluconeogénesis. Las enzimas participantes son: [1] propionil-CoA sintetasa, [2] propionil-CoA carboxilasa, [3] metil-malonil-CoA racemasa, y [4] metil-malonil-CoA mutasa. Esta última enzima utiliza la coenzima B_{12}, la cual puede ser limitante en rumiantes en los casos de deficiencia de cobalto.

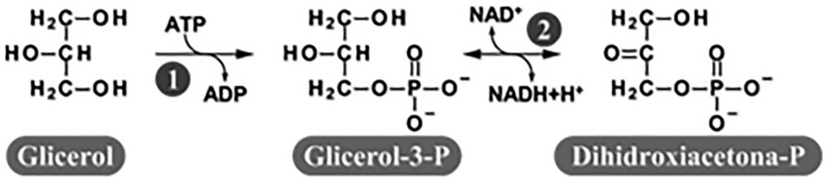


Figura 5.17. Gluconeogénesis a partir del glicerol

En la primera etapa el glicerol sufre fosforilación. Luego, el glicerol-3-fosfato es oxidado generando dihidroxiacetona fosfato, compuesto intermediario de la vía glucolítica/gluconeogénica. Las enzimas participantes son: [1] glicerol quinasa y [2] glicerol-3-fosfato deshidrogenasa.

en esos tejidos, debe seguir por la corriente circulatoria hasta el hígado, donde se oxida a piruvato por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (**Figura 5.7B**). El piruvato entra en la mitocondria y allí se convierte en OAA, continuando la gluconeogénesis.

Gluconeogénesis a partir de aminoácidos

La mayoría de los aminoácidos puede seguir la vía gluconeogénica a través de intermediarios del ciclo de Krebs o a través del piruvato. Esos aminoácidos son llamados glucogénicos y tienen cinco posibles sitios de entrada: (a) vía piruvato (Ala, Ser, Cys, Gly), (b) vía α-cetoglutarato (Glu, Pro, Arg, His), (c) vía succinil-CoA (Val, Thr, Met, Ile), (d) vía fumarato (Phe, Tyr), y (e) vía OAA (Asp). Los aminoácidos Trp, Ile, Phe y Tyr pueden generar glucosa o acetil-CoA, dependiendo de la ruta metabólica, constituyéndose en aminoácidos glucogénicos o cetogénicos. De todos los aminoácidos, solamente la leucina no puede generar glucosa, siendo, por tanto, un aminoácido cetogénico obligatorio.

La ruta de la gluconeogénesis a partir de aminoácidos opera en todas las especies, pero cobra especial importancia en situaciones de balance energético negativo, en que las proteínas de reserva (albúmina y músculo) garantizan la manutención de la glucemia. En los animales carnívoros la glucemia se garantiza mediante esta vía utilizando los aminoácidos de la proteína de la dieta.

Regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis

La glucólisis y la gluconeogénesis están reguladas de forma separada y recíproca. El principal punto de control está relacionado con las reacciones que envuelven el piruvato, en ambos casos. En la glucólisis está envuelto el complejo piruvato deshidrogenasa y en la gluconeogénesis la enzima piruvato carboxilasa. En la **Figura 5.18** se muestran los principales puntos de control de las dos vías. Las referencias a las enzimas en el siguiente apartado se refieren a esta figura.

Cuando ocurre glucólisis anaeróbica el gasto de glucosa es mucho mayor que cuando ocurre glucólisis aeróbica, debido a que en la primera la producción de energía es mucho menor (2 ATP) que en la segunda, considerando la oxidación total de la glucosa hasta CO_2 y H_2O (38 ATP). Este hecho se denomina 'efecto Pasteur' y ocurre porque el flujo de glucosa para la glucólisis está regulado por los niveles de ATP, que actúan como moduladores sobre la actividad de algunas enzimas alostéricas, especialmente la fosfofructoquinasa-1 (PFK-1) y la piruvato quinasa (enzimas 3 y 5). Produciendo menos ATP, la glucólisis anaeróbica 'presiona' más glucosa para que ocurra glucólisis. La glucosa-6-fosfato puede ir a otras vías secundarias de oxidación, siendo la enzima PFK-1 la que dirige la glucosa para la ruta glucolítica. La PFK-1 es una enzima alostérica inhibida por el ATP, el cual se une al sitio alostérico de la enzima, disminuyendo su afinidad por la fructosa-6-fosfato, su sustrato natural. El ADP y el AMP pueden revertir la inhibición causada por el ATP, lo que los vuelve moduladores estimulatorios de la PFK-1. El citrato, primer metabolito intermediario del ciclo de Krebs, incrementa el efecto inhibitorio del ATP sobre la PFK-1, pues su presencia es indicativa de que las necesidades de energía de la célula están cubiertas. No obstante, el regulador alostérico más significativo de la PFK-1 es la fructosa-2,6-difosfato, metabolito que activa fuertemente la enzima. Este metabolito es producido por la enzima PFK-2 a partir de fructosa-6-fosfato (mismo sustrato de la PFK-1). Así, cuando los niveles de fructosa-6-fosfato aumentan, la vía glucolítica incrementa su velocidad debido a la acción de la fructosa-2,6-difosfato. Este metabolito también inhibe la enzima fructosa-1,6-difosfatase, que participa en la gluconeogénesis, inhibiendo este proceso biosintético cuando está ocurriendo la glucólisis. La fructosa-2,6-difosfato es desfosforilada por la enzima fructosa-difosfatasa-2 (FBP-2), que está regulada por la hormona glucagón, vía cAMP. Esta hormona estimula la gluconeogénesis. Por tanto, cuando disminuye el nivel de fructosa-2,6-difosfato se inhibe la glucólisis y se estimula la gluconeogénesis. La piruvato quinasa, segunda enzima regulatoria de la glucólisis, es inhibida por altos niveles de ATP en forma alostérica, disminuyendo la afinidad de la enzima por su sustrato (PEP). También es inhibida por acetil-CoA y por ácidos grasos de cadena larga, los cuales asimismo constituyen combustibles del ciclo de Krebs.

La enzima piruvato carboxilasa tiene como activador alostérico el acetil-CoA (enzima 7), de modo que la biosíntesis de glucosa se ve favorecida cuando hay altos niveles de acetil-CoA. Por otro lado, cuando las necesidades energéticas de la célula están satisfechas (alto valor de la relación ATP/ADP), ocurre disminución de la fosforilación oxidativa, siendo aumentados los niveles de NADH con inhibición del ciclo de Krebs. Por consecuencia, el acetil-CoA se acumula, causando inhibición de la enzima piruvato deshidrogenasa (enzima 6), con disminución de la glucólisis y acumulación de piruvato. El piruvato acumulado activa la enzima piruvato carboxilasa, direccionando el piruvato en el sentido de la gluconeogénesis (enzima 7).

Otro punto de control de la gluconeogénesis es ejercido sobre la enzima fructosa 1,6-difosfatasa (enzima 4), la cual es inhibida por AMP. La enzima que cataliza la reacción inversa en la glucólisis (enzima 3) es la fosfofructoquinasa-1 (PFK-1), la cual es estimulada por AMP y ADP e inhibida por citrato y ATP. Cuando hay suficiente concentración de ATP y citrato ocurre el favorecimiento de la gluconeogénesis y de la síntesis de glucógeno. La gluconeogénesis puede ser activada hormonalmente por el glucagón, mediante la activación de la enzima fructosa 1,6-difosfatasa y la inhibición de la enzima fosfofructoquinasa-2 (PFK-2), isoenzima de la PFK-1. El efecto del glucagón lleva a la conversión de la fructosa-1,6-difosfato en fructosa-6-fosfato, favoreciendo la gluconeogénesis e inhibiendo la glucólisis.

Biosíntesis de lactosa

La lactosa es un disacárido formado por glucosa y galactosa en unión $\alpha(1\rightarrow4)$ que es sintetizado

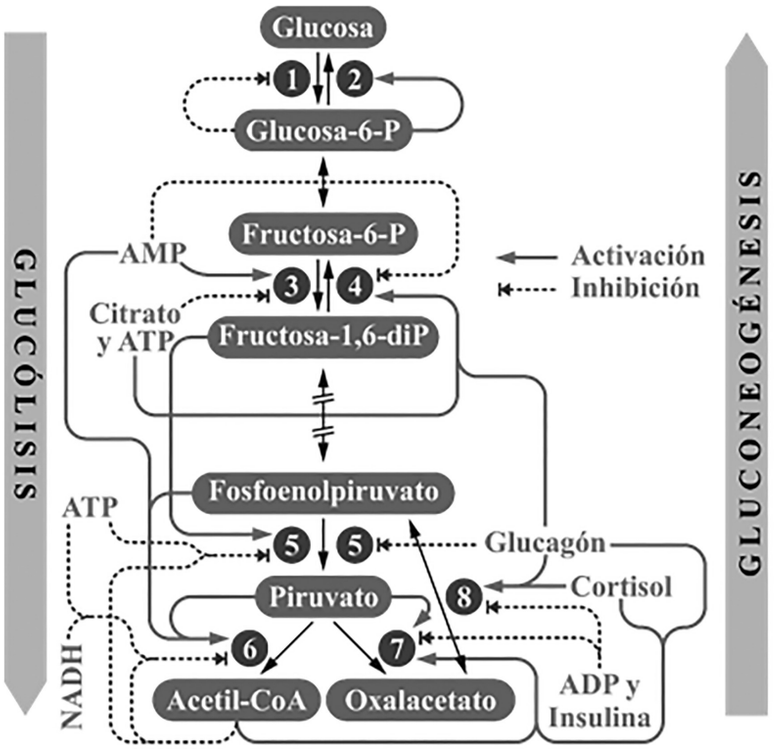


Figura 5.18. Control alostérico y hormonal de la glucólisis y de la gluconeogénesis

El producto final de la glicólisis es el piruvato, el cual puede ser convertido en acetil-CoA, que seguirá para el ciclo de Krebs (generación de energía). A través de la gluconeogénesis diversos metabolitos pueden ser usados para generar oxalacetato y este, en última instancia, para generar glucosa. Varios metabolitos y hormonas que regulan la glucólisis y la gluconeogénesis lo hacen de modo recíproco. Así, la glucosa-6-P simultáneamente estimula la gluconeogénesis (paso 2), inhibiendo la glucólisis (paso 1). El AMP estimula la glucólisis (en los pasos 3 y 6) e inhibe la gluconeogénesis (en el paso 4). En contraste con el AMP, el citrato y el ATP estimulan la gluconeogénesis (en el paso 4) e inhiben la glucólisis (en el paso 3). Además, el ATP ejerce efecto inhibitorio sobre la glucólisis en las etapas 5 y 6. El acetil-CoA ejerce acción inhibitoria sobre la glucólisis (pasos 5 y 6), estimulando la gluconeogénesis (paso 7). El glucagón y el cortisol, hormonas de efecto hiperglucemiante, estimulan la gluconeogénesis (pasos 7 y 8). El glucagón, también, inhibe la glucólisis (paso 5) y estimula la gluconeogénesis (paso 4). Como cabría esperar, el ATP y el NADH inhiben la glucólisis, así como el ADP y la insulina inhiben la gluconeogénesis. Las enzimas participantes son: [1] hexoquinasa (glucoquinasa en el hígado), [2] glucosa-6 fosfatasa, [3] fosfofrutoquinasa, [4] fructosa-1,6-difosfatasa, [5] piruvato quinasa, [6] piruvato deshidrogenasa, [7] piruvato carboxilasa y [8] fosfoenolpiruvato carboxiquinasa.

exclusivamente por la glándula mamaria activa. La síntesis es realizada en el aparato de Golgi de las células del epitelio mamario. Las moléculas precursoras, glucosa y galactosa, provienen principalmente de la glucosa sanguínea o de sustancias rápidamente convertibles en glucosa, a través de la vía gluconeogénica, tales como propionato, piruvato, oxalacetato y aminoácidos. Mitad de la glucosa que llega a la glándula mamaria es enviada para síntesis de lactosa, y la otra mitad a la formación de glicerol, necesario para la síntesis de los triglicéridos de la leche. El glicerol se obtiene de la dihidroxiacetona-P (vía glucolítica). La galactosa necesaria para la síntesis de lactosa puede provenir de la propia glucosa o también del glicerol. La galactosa es sintetizada a partir de la UDP-glucosa, que es convertida en UDP-galactosa por una epimerasa (**Figura 5.19**).

Una vez que la secreción de lactosa en el alvéolo mamario determina la cantidad de agua en la leche, por ósmosis, la síntesis de lactosa es uno de los factores determinantes en la producción total de leche. Por tanto, la disponibilidad de glucosa sanguínea y, consecuentemente, de glucosa en la glándula mamaria, constituye un factor limitante para la producción de

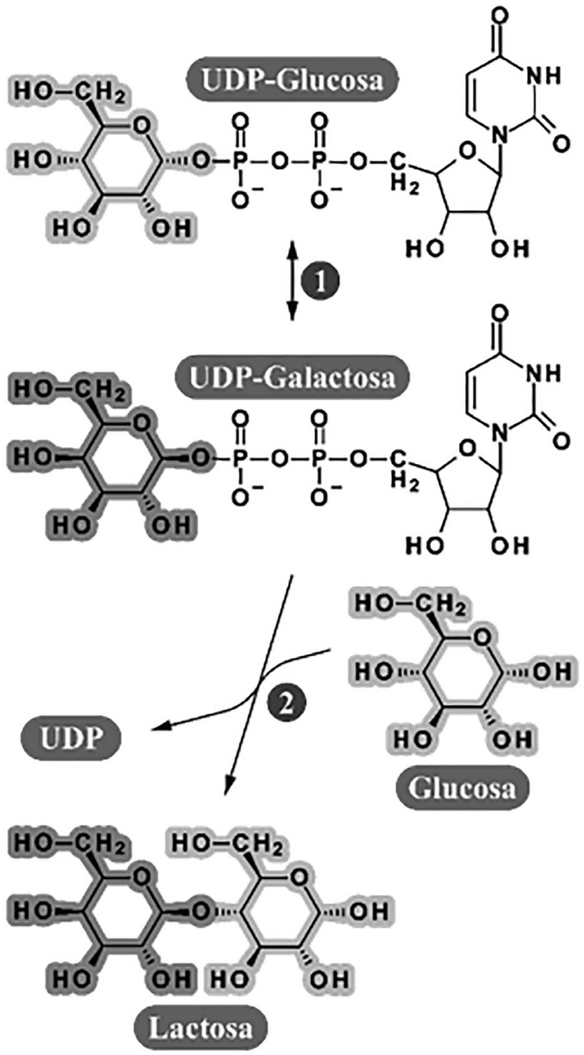


Figura 5.19. Biosíntesis de la lactosa

La lactosa se sintetiza a partir de dos moléculas de glucosa, una de ellas en forma de UDP-glucosa (consultar la Figura 5.6 para la formación de la UDP-glucosa). El UDP (uridina difosfato) resultante puede ser fosforilado nuevamente a la UTP (con gasto de ATP) y usado para generar más UDP-glucosa. Las enzimas participantes son: [1] UDP-glucosa-4-epimerasa y [2] lactosa sintetasa (galactosiltransferasa y α-lactalbúmina).

leche, considerado el potencial genético del animal. La enzima que sintetiza la lactosa es un complejo llamado lactosa sintetasa (**Figura 5.19**), compuesto de dos proteínas: (a) galactosiltransferasa, presente en el aparato de Golgi de la célula epitelial mamaria y de otros tejidos, y (b) α-lactalbúmina, proteína presente en altas concentraciones en la leche. Actuando de forma aislada la galactosiltransferasa cataliza enlaces entre UDP galactosa y N-acetilglucosamina para sintetizar oligosacáridos. En presencia de la lactalbúmina en las células mamarias, esta enzima transfiere la UDP galactosa a la glucosa formando lactosa. El complejo lactosa sintetasa requiere Mn^{2+} como cofactor, a pesar de que la concentración de este catión en la glándula mamaria es baja (50-100 μmoles/L). La síntesis de la lactalbúmina es inhibida por la progesterona durante la gestación en la glándula mamaria inactiva, de forma que la galactosiltransferasa no puede formar lactosa, pero contribuye a la formación de oligosacáridos de membrana.

Fructosa como fuente de energía

La glucosa puede producir fructosa a fin de servir como fuente de energía exclusiva en los espermatozoides, donde es necesaria para sus movimientos. Esta exclusividad en el uso de la fructosa sirve, aparentemente, para que otras células no puedan usarla como fuente de energía. En la síntesis de fructosa es producido sorbitol como compuesto intermediario, el cual es un alcohol derivado de la glucosa, cuyo grupo C-1 aldehído es reducido a alcohol (-CHO → -CH_2OH). La fructosa, monosacárido también abundante en las frutas, puede ser oxidada, en el proceso conocido como fructólisis, hasta lactato, para producir energía en ciertos tejidos.

5.4 El metabolismo de los glúcidos y las hormonas del páncreas

El páncreas es una glándula con funciones exocrinas y endocrinas. La función exocrina del páncreas está representada por las enzimas digestivas, producidas en la mayor parte del tejido. La función endocrina es realizada por los islotes de Langerhans, los cuales están difusamente distribuidos en el tejido pancreático, representando solo 2 % del peso del páncreas. Los islotes son cordones y aglomerados irregulares de células y capilares que secretan hormonas relacionadas con el control del metabolismo energético: insulina, glucagón y somatostatina. Cada hormona es secretada por grupos diferentes de células. Las células A (α), que constituyen 25 % de los islotes, secretan glucagón. Las células B (β), que componen 60 % de los islotes, secretan insulina, y las células D (δ), las cuales corresponden al 10 % de los islotes, secretan somatostatina. Una hormona adicional, cuya función parece ser la regulación de la secreción de las enzimas pancreáticas, es conocida como péptido

pancreático, y es secretada por células poco numerosas llamadas células F (5 % de los islotes). La insulina y el glucagón mantienen la concentración de glucosa en la sangre. La insulina facilita el ingreso y la utilización de glucosa en las células, reduciendo la cantidad de glucosa sanguínea (acción hipoglucemiante). El glucagón, por el contrario, aumenta la concentración de glucosa en la sangre mediante el estímulo de la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepáticas. La somatostatina inhibe la liberación de insulina y glucagón.

Insulina

La insulina es una proteína globular relativamente pequeña (5,7 kDa). La insulina bovina posee 51 residuos de aminoácidos y tiene dos cadenas polipeptídicas, A y B, con 21 y 30 residuos, respectivamente. Estas cadenas están unidas mediante puentes disulfuro. Existen diferencias entre las insulinas de diferentes especies, generalmente en los aminoácidos 8, 9 y 10 de la cadena A y en el aminoácido 30 de la cadena B. Las insulinas canina y porcina tienen la misma estructura. El producto de la traducción del mRNA para la insulina es un polipéptido de 11,5 kDa llamado preproinsulina. Esta presenta 23 residuos de aminoácidos extras en la extremidad N-terminal, correspondiendo al péptido señalizador. La preproinsulina secretada en el retículo endoplasmático rugoso pasa de la cisterna del retículo al aparato de Golgi, donde es realizado el clivaje del péptido señalizador, liberando la proinsulina. Esta última tiene 81 aminoácidos, 51 en las cadenas A y B y 30 aminoácidos en el péptido de conexión o péptido C, el cual sufre proteólisis parcial en los gránulos de secreción de las células β para liberar las cadenas A y B, sin afectar los puentes disulfuro intracatenarios. Cuando son comparadas diferentes especies, existe mayor variación en la secuencia de aminoácidos del péptido de conexión que en las cadenas activas. La vida media de la insulina es de cinco a diez minutos, siendo degradada por proteasas específicas después de su unión con los receptores en las células blanco.

Funciones de la insulina

Los órganos blanco primarios de la insulina son el hígado, el músculo y las células adiposas. Actúa, también, de forma sinérgica con la prolactina, sobre la glándula mamaria. La insulina tiene acciones anabólicas, esto es, favorece la síntesis de proteínas, glucógeno y triglicéridos. Su efecto es opuesto al de las hormonas catabólicas (glucagón, catecolaminas, glucocorticoides, GH). Además tiene efecto sobre el transporte a través de membranas, facilitando el ingreso y la utilización intracelular de la glucosa, los aminoácidos y el ion potasio. La administración de insulina con fines terapéuticos puede causar, además de hipoglucemia, una hipocalemia. Este efecto es ocasionado por estimulación de la bomba Na-K-ATPasa, aumentando el ingreso de potasio en las células, lo cual puede causar trastornos cardiovasculares. Algunas células no requieren la presencia de insulina para la entrada de glucosa, entre ellas: las células del cerebro, del tracto gastrointestinal, los eritrocitos, los leucocitos, las células de los islotes pancreáticos, de los túbulos renales y los hepatocitos.

La insulina aumenta la actividad de las enzimas envueltas en la glucólisis, especialmente la glucoquinasa, la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa. Efecto opuesto, o sea, disminución de actividad, es ejercido sobre las enzimas de la gluconeogénesis, como la glucosa-6-fosfatasa, la fructosa 1,6-difosfatasa, la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la piruvato carboxilasa. Algunas enzimas tienen su actividad modificada por la insulina a través de procesos que envuelven desfosforilación. Así, la glucógeno sintetasa, enzima encargada de sintetizar el glucógeno, pasa de su forma inactiva, fosforilada, a su forma activa, desfosforilada. El efecto final de la acción de la insulina sobre el metabolismo de los glúcidos es aumentar la síntesis de glucógeno en presencia de glucosa-6-fosfato e inhibir la glucogenólisis. La combinación de las acciones anteriores hace que la insulina tenga efecto hipoglucemiante. Otra enzima activada mediante desfosforilación mediada por la insulina es la piruvato deshidrogenasa, la cual oxida el piruvato a acetil-CoA. Este metabolito puede, después, servir de precursor para la síntesis de ácidos grasos, o de fuente energética mediante su oxidación en el ciclo de Krebs. Por tanto, la insulina promueve la lipogénesis e inhibe la lipólisis. La insulina también promueve la desfosforilación de la enzima acetil-CoA carboxilasa, que convierte el acetil-CoA en malonil-CoA, activando su acción y estimulando la síntesis de ácidos grasos. Simultáneamente, la desfosforilación de la lipasa, mediada por la insulina, inhibe la degradación de los triglicéridos. La insulina también estimula la síntesis de lipoproteínas LDL y de la lipoproteína-lipasa de membrana para facilitar la disponibilidad de ácidos grasos en el tejido adiposo

para la lipogénesis. La síntesis de proteínas en el hígado es estimulada por la insulina al aumentar la captación de aminoácidos y la capacidad ribosomal para traducir mRNA, también acelerando la transcripción y la replicación del DNA, y llevando a la proliferación celular, actividad importante en la promoción del crecimiento y la diferenciación celular.

Mecanismo de acción de la insulina

Los receptores insulínicos, en número de 10^3 a 10^5 por célula, son glucoproteínas localizadas en la membrana plasmática. Su número está regulado por la concentración de insulina en un mecanismo llamado *down-regulation*, esto es, al aumentar el nivel de insulina en la sangre decae el número de receptores de la hormona. La insulina se une al receptor en la membrana y el complejo insulina-receptor es internalizado, generando dos tipos de acción: (a) en la membrana plasmática, estimula los sistemas de transporte de glucosa (GLUT 4), aminoácidos y algunos iones, por difusión facilitada, aparentemente mediante cambios conformacionales en los transportadores; y (b) en el medio intracelular afecta las enzimas envueltas en el metabolismo de los glúcidos, los lípidos y las proteínas. Fue propuesto que el receptor de la insulina sería un polipéptido con dos subunidades. La primera subunidad actuaría como una proteína quinasa fosforilando la segunda subunidad, la cual actuaría como segundo mensajero, estimulando la movilización de proteínas transportadoras de glucosa. La acción de la insulina sobre la actividad de las enzimas es básicamente por desfosforilación y por inhibición de los efectos del cAMP, a través de la disminución de los niveles de la adenilciclasa (enzima que cataliza la formación de cAMP) y la estimulación de la fosfodiesterasa (enzima que cataliza la degradación de cAMP).

Control de la secreción de insulina

El control de la secreción de insulina es mediado por los niveles sanguíneos de glucosa. Las células β de los islotes pancreáticos responden positivamente al estímulo de la glucosa, los aminoácidos (en especial arginina, lisina y leucina), los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos. En los rumiantes los ácidos grasos volátiles también son estimuladores de la secreción de insulina. Las hormonas gastrointestinales (VIP, GIP, gastrina, secretina y colecistoquinina) y el glucagón estimulan asimismo la liberación de insulina. La insulina es secretada sobre todo después de las refecciones para prevenir la hiperglucemia posprandial, evento ligado a las señales entéricas que estimulan la secreción de las hormonas gastrointestinales. El estímulo para la secreción de insulina por la glucosa, su más potente estimulador, envuelve el aumento en la captación de Ca^{2+} y el incremento de cAMP en las células β pancreáticas. La hipercalcemia o la administración de calcio favorecen la liberación de insulina. El nervio vago estimula la secreción de insulina vía receptores colinérgicos (muscarínicos). La estimulación adrenérgica inhibe la liberación de insulina a través de receptores a_2 adrenérgicos. El estrés y el ejercicio provocan inhibición de la liberación de insulina. Una regulación paracrina indica que la insulina inhibe la secreción de glucagón y, tal vez, la de somatostatina. El glucagón estimula la secreción de insulina y somatostatina, y la somatostatina inhibe la secreción de insulina y glucagón. El efecto mediador para esta regulación paracrina es desconocido.

Glucagón

El glucagón está compuesto por una cadena polipeptídica simple con veintinueve residuos de aminoácidos y peso molecular de 3,5 kDa. Esta hormona exhibe similaridad estructural con algunas hormonas gastrointestinales, como secretina, VIP y GIP. Es secretado como proglucagón, con peso molecular de 18 kDa, precursor formado por las células α pancreáticas, el cual sufre modificaciones postraducción. También existen sitios de síntesis de glucagón en el intestino y en las glándulas salivares. El glucagón sale de las células pancreáticas por exocitosis a partir de gránulos secretores.

Los principales efectos del glucagón son opuestos a los de la insulina. De esa forma, estimula la degradación de las reservas de glucógeno, lípidos y proteínas, elevando el nivel de glucosa sanguínea durante períodos de déficit energético. El glucagón tiene efecto hiperglucemiante por estimular tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis, a través de la estimulación de cAMP, activación de quinasas y fosforilación de enzimas. Así, tiene efecto activador sobre la glucógeno fosforilasa e inactivador sobre la glucógeno sintetasa. También inactiva la piruvato quinasa y activa la fructosa-1,6-difosfatasa, promoviendo la gluconeogénesis. El efecto glucogenolítico del glucagón es idéntico al de la adrenalina, aunque actúa en bajas concentraciones y sin causar la elevación de la presión sanguínea que las catecolaminas provocan.

El glucagón acelera la proteólisis hepática, aumentando el *pool* de aminoácidos y de la formación de urea. Los aminoácidos suministran los esqueletos carbonados precursores para la gluconeogénesis. También inhibe la síntesis de ácidos grasos y colesterol a partir de acetil-CoA; sin embargo, como el glucagón aumenta la actividad de la lipasa, ocurre incremento en la concentración de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos en la sangre. La activación de la lipasa es mediada por el aumento en el nivel de cAMP intracelular. En el riñón el glucagón favorece la filtración glomerular y la excreción de sodio, potasio, cloro, fósforo inorgánico y ácido úrico.

El glucagón es una hormona catabólica, mientras que la insulina es una hormona anabólica, y la acción articulada de las dos constituye el principal punto de control sobre la homeostasis de la glucosa. Durante el período posprandial, la insulina mejora la utilización y el almacenamiento de glucosa, causando disminución de la glucemia. Por otro lado, en períodos de alta demanda metabólica el glucagón aumenta la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepáticas a fin de aumentar los niveles de glucosa sanguínea. El estímulo para la secreción de glucagón es la hipoglucemia, mediado por el aumento de calcio intracelular, aunque los detalles de los mecanismos son desconocidos. El estímulo colinérgico provoca secreción de glucagón. Igual efecto tiene el sistema simpático, vía receptores β-adrenérgicos, lo cual implica que el glucagón es secretado en condiciones de estrés. Los aminoácidos son también estimuladores tanto de la secreción de glucagón como de insulina, esto se evidencia después de una alimentación rica en proteínas. La elevación en la concentración de ácidos grasos inhibe la secreción de glucagón. Las hormonas tiroidianas aumentan el número de receptores para glucagón, sugiriendo que tales hormonas ejercen efecto permisivo sobre la acción del glucagón. Los péptidos gastrointestinales, tales como CCK y gastrina, así como las catecolaminas, la GH y los glucocorticoides, estimulan la liberación de glucagón.

Somatostatina

La somatostatina es un péptido con catorce residuos de aminoácidos y peso molecular de 1,638 kDa. Previamente descrita como una hormona hipotalámica inhibitoria de la secreción hipofisaria de GH, fue luego evidenciada su secreción por células gástricas, intestinales y pancreáticas. La somatostatina es inhibidora de la secreción de insulina y glucagón, así como de secretina y gastrina. También inhibe los movimientos gástricos, la contracción de la vesícula biliar, la motilidad duodenal, la secreción exocrina pancreática y la absorción de glucosa del intestino. Su secreción es estimulada por niveles elevados de glucosa y aminoácidos, y por la CCK. Su mecanismo de acción inhibitorio parece ser por bloqueo de la entrada de calcio en las células blanco, teniendo más un papel de control paracrino.

5.5 Trastornos del metabolismo de los glúcidos

La glucosa es el metabolito que representa la mayor parte de los mecanismos energéticos en los mamíferos superiores, siendo designada como glucemia su concentración en la sangre. Bajos valores de glucosa en la sangre no constituyen un trastorno único, sino un signo clínico asociado a eventos fisiológicos, como la lactación, o patológicos como la cetosis de los rumiantes o el hipoadrenocorticismo. Existen dos aspectos que diferencian el mecanismo energético entre monogástricos y rumiantes. La digestión en los monogástricos tiene alcances limitados, pues apenas el almidón y los glúcidos simples pueden ser digeridos, teniendo la glucosa como producto final. Del intestino la glucosa se absorbe y en el hígado es fosforilada para entrar en diferentes vías metabólicas y ser distribuida a los diversos tejidos. En los rumiantes la situación es muy distinta, pues los animales poligástricos prácticamente no absorben glucosa del intestino, su adaptación digestiva les permite utilizar la celulosa y otros glúcidos estructurales de las paredes celulares de los vegetales, utilizando una relación simbiótica entre microorganismos y medio ambiente ruminal. Los productos finales de la fermentación anaeróbica no incluyen la glucosa, sino ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV), especialmente acético, propiónico y butírico, los cuales son absorbidos directamente en la pared del rumen y transportados al hígado. Apenas el ácido propiónico puede ser transformado en glucosa en el hígado, mientras que los ácidos acético y butírico sirven como sustratos para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (AGL).

Hipoglucemia

La hipoglucemia se configura cuando la concentración de glucosa plasmática alcanza menos de 60 mg/dL (monogástricos) o menos de 40 mg/dL (rumiantes). La causa principal de la hipoglucemia está en la ausencia de reservas (ayuno prolongado), gasto exagerado de glucosa por tejidos periféricos (lactación, gestación, hiperinsulinismo, sepsis), o pobre capacidad metabólica del hígado, como ocurre en animales recién nacidos, en los que la gluconeogénesis hepática solo es posible a partir del quinto día de vida (tiempo necesario para que las mitocondrias asuman totalmente sus funciones oxidativas), o en casos de insuficiencia o lesión hepática de variados orígenes.

Etiología

La desnutrición y la ausencia de reservas es la causa de hipoglucemia más frecuente en animales de producción, sea por dificultades ambientales o por efectos directos del manejo. En animales monogástricos la causa más común de hipoglucemia está asociada a falla en el funcionamiento hepático por razones tóxicas o infecciosas. En situación de ayuno prolongado en rumiantes la producción ruminal de ácidos grasos volátiles (AGV) detiene el proceso de fermentación bacteriana y los protozoarios desaparecen por ausencia de sustrato. Sin AGV no hay precursores de glucosa, lo que disminuye la secreción de insulina y activa la de glucagón para liberar glucógeno hepático y activar la lipólisis y el catabolismo muscular.

La gluconeogénesis también está comprometida en la deficiencia de las llamadas hormonas diabetogénicas o hiperglucemiantes (cortisol, GH, glucagón, adrenalina), como en el hipoadrenocorticismo. Hipoglucemia iatrogénica puede ser observada en tratamiento inadecuado de la diabetes mellitus (dosis de insulina en exceso). La edad y la condición general del paciente auxilian bastante en conocer la causa de la hipoglucemia. Animales viejos tienden a presentar hipoglucemia frente a insulinoma o hipoadrenocorticismo. En la primera, una secreción exagerada y autónoma de insulina por un tumor mantiene la glucemia persistentemente baja, mientras que en la segunda la deficiencia de glucocorticoides inhibe la gluconeogénesis y el paciente se torna hipoglucémico frente al ayuno. No obstante, otras enfermedades pueden provocar hipoglucemia en animales de edad, como enfermedades hepáticas, condiciones debilitantes o sepsis. Frente a sepsis se demostró que ocurre un reajuste del glucostato hipotalámico, muchas veces ajustando el intervalo que sería ideal para valores bajos, manteniendo al paciente hipoglucémico. Sin embargo, cuadros sépticos tienden a causar resistencia a la insulina, lo cual aumentaría la glucosa en el plasma. Este aumento de la glucemia está destinado a las células inflamatorias que están plenamente activas enfrentando los agresores, y de esta forma también pueden predisponer a hipoglucemia durante la sepsis.

Animales muy jóvenes pueden presentar hipoglucemia si se mantienen en ayuno prolongado, una vez que ellos aún no presentan una gluconeogénesis eficiente. Esto es particularmente importante en cachorros de gatos, que pueden tornarse hipoglucémicos, hipotensos y con hipotermia frente a desnutrición, o en lechones recién nacidos que no ingieren calostro. En estos casos el estupor puede aparecer como síntoma inicial de hipoglucemia. Sin embargo, verminosis severas, desnutrición crónica, enfermedades hepáticas hereditarias, sepsis, o alteraciones vasculares (*shunt* portosistémico) también son causas comunes de hipoglucemia en animales jóvenes. Pacientes diabéticos en terapia con insulina o hipoglucemiantes orales pueden experimentar signos de hipoglucemia si el tratamiento no es adecuado. La severidad de la manifestación de hipoglucemia será derivada de la intensidad y el tiempo de duración de la crisis hipoglucémica. Otras causas de hipoglucemia son las siguientes: policitemia severa, hipoglucemia en perros de caza y de razas toy, intoxicación por propanolol, hipopituitarismo, neoplasia extrapancreática, enfermedades cardiacas, intoxicación por salicilatos, uremia y uso de drogas hipoglucemiantes orales.

Algunos factores relacionados con la recogida de la muestra o con el método de análisis pueden causar falsas alteraciones en la glucemia. Si la muestra de sangre queda mucho tiempo sin separar el plasma/suero, y no se usa anticoagulante inhibidor de la glucólisis (fluoruro de sodio), la concentración de glucosa puede bajar a una tasa aproximada de 10 mg/dL/hora. Muestras hemolizadas pueden ser causa de falso aumento de glucosa. Los métodos de análisis de glucosa mediante tiras de química seca (glucometría portátil) tienen alta correlación con aquellos medidos por métodos de química húmeda (kits).

Implicaciones metabólicas de la hipoglucemia

En situaciones de hipoglucemia aumenta la secreción de glucagón y disminuye la secreción de insulina en el páncreas endocrino. Receptores en el hipotálamo son estimulados para activar la médula adrenal y secretar adrenalina. El mecanismo resultante es combinado y produce tres efectos metabólicos: aumenta la glucogenólisis hepática (degradación de glucógeno) para liberar glucosa a la sangre, moviliza triglicéridos del tejido adiposo para utilizar glicerol en la gluconeogénesis y ácidos grasos libres como combustible alternativo en la oxidación respiratoria y, finalmente, estimula la liberación de aminoácidos de la proteína muscular para que puedan ser direccionados como precursores de glucosa. Los efectos del glucagón y la adrenalina son rápidos, aunque cortos. En caso de que persista la falta de glucosa es necesaria una respuesta de largo plazo que se inicia en el lóbulo anterior de la hipófisis secretando las hormonas adrenocorticotropina (ACTH) y somatotropina (GH). La ACTH estimula la formación de glucocorticoides en el córtex adrenal. El efecto final consiste en aumentar la disponibilidad de glicerol y ácidos grasos libres procedentes de la lipólisis, y promover la proteólisis endógena muscular para liberar aminoácidos destinados a la gluconeogénesis hepática. Los glucocorticoides resultan especialmente efectivos porque estimulan el suministro de glucosa en la sangre a fin de atender las demandas metabólicas. Esta situación se caracteriza por la elevación sanguínea de AGL provenientes de la lipomovilización, en proporción que varía según la severidad de la hipoglucemia. En algunas situaciones puede haber infiltración de grasa en el hígado (lipidosis hepática) por disminución de la síntesis de lipoproteínas de transporte y aumento de los niveles sanguíneos de triglicéridos y colesterol. El hígado graso representa una gran limitación metabólica y es de pronóstico desfavorable para la vida productiva del animal. Los AGL entran en la ruta de la beta-oxidación para producir acetil-CoA y cuerpos cetónicos como mecanismo secundario que eventualmente puede provocar cetosis. En esa situación es común la elevación de las enzimas hepáticas y de la bilirrubina.

Signos clínicos de la hipoglucemia

Los signos clínicos de la hipoglucemia se hacen evidentes cuando la glucemia cae a menos de 45 mg/dL (perro, gato) o menos de 30 mg/dL (rumiantes). De forma general, la hipoglucemia cursa con signos neuroglucopénicos (baja concentración de glucosa en el SNC), tales como temblores, convulsiones, debilidad, incoordinación, letargo, desorientación, alucinaciones, nerviosismo, comportamientos extraños, andar tambaleante, vocalización excesiva, ataxia, estupor y coma. Otros signos clínicos son derivados del déficit energético muscular (intolerancia al ejercicio) o son signos clínicos adrenérgicos (hipotermia, bradicardia, dilatación pupilar, ausencia de tono muscular). Los efectos de la hipoglucemia sobre la fertilidad han sido ampliamente documentados, habiendo una estrecha relación inversa debido al efecto negativo de la hipoglucemia sobre la liberación de FSH y LH. Animales que sufren hipoglucemia durante la gestación tendrán descendencia con bajo peso y escasas probabilidades de sobrevivencia.

Abordaje del paciente hipoglucémico

Después de determinarse la existencia de hipoglucemia, que puede ser confirmada a través de medidas repetidas de la glucemia, es fundamental conocer la causa para un manejo adecuado del paciente. La evaluación del estado del paciente, anamnesis detallada y examen clínico, pueden dar buenas pistas sobre la causa del problema. Por ejemplo, un cachorro extremadamente apático e hipoglucémico, con abdomen distendido y encontrado en la calle, es sugestivo de hipoglucemia secundaria a desnutrición y verminosis. Hipoglucemia recurrente en perros de edad media a avanzada y sobrepeso es bastante sugestivo de insulinoma. La presencia de deshidratación, hipotensión y una condición corporal flaca, especialmente sumado a histórico de falta de apetito, vómitos y diarrea ocasional, pueden ser signos sugestivos de hipoadrenocorticismo. Se puede esperar ocurrencia de hipoglucemia en animales que vienen de tratamiento prolongado con glucocorticoides y que tuvieron la administración interrumpida de forma abrupta, lo que caracteriza una forma clásica de hipoadrenocorticismo iatrogénico.

Mientras más severos sean los signos clínicos, probablemente la hipoglucemia sea más severa o está ocurriendo hace más tiempo. Un fenómeno interesante es la hipoglucemia inconsciente, donde a pesar de valores bajos de glucosa plasmática el paciente no presenta ninguna alteración clínica. Esto puede ocurrir muchas veces en pacientes diabéticos con terapia insulínica y que se presentan normales

frente a glucemias de 30-40 mg/dL, por ejemplo. Este fenómeno se deriva de una habituación del SNC a la baja glucemia, sin desencadenar déficit neurológico o respuesta contrarreguladora de forma eficiente. No obstante, cuando se manifiestan signos clínicos, estos tienden a ser más severos. A pesar de que los signos más comunes de hipoglucemia son apatía, postración, debilidad, temblores musculares y déficit locomotor, no es raro que la hipoglucemia se manifieste a través de agitación excesiva, como jadeo intenso, nerviosismo y desorientación. El examen clínico puede dejar clara la existencia de un cuadro patológico asociado como causante de la hipoglucemia, como en los casos de sepsis (hipertermia, deshidratación, taquicardia) o enfermedades hepáticas (con ictericia o ascitis). La activación simpática frente a la hipoglucemia también es bastante nítida a través de la taquicardia y de pupilas dilatadas.

Los exámenes complementarios de estos pacientes son bastante importantes para determinar la causa del problema, ya que la detección de la hipoglucemia simplemente explica los signos clínicos observados, que podrían estar siendo causados por otras anormalidades como hipocalcemia, azotemia, encefalopatía hepática e incluso enfermedades primarias del SNC. Perfiles hematológicos, bioquímicos y urinarios podrán elucidar la causa de la hipoglucemia. Un paciente con elevada actividad de las enzimas hepáticas, hipoalbuminemia, hipocolesterolemia, baja uremia e hipoglucemia puede ser indicativo de insuficiencia hepática. Un paciente con hipercalemia, hiponatremia (en especial si la relación Na:K es inferior a 27:1) es bastante sugestivo de hipoadrenocorticismo, a pesar de que enfermedades hepáticas, renales o del tracto digestivo también pueden causar relación Na:K reducidas. Sin embargo, mientras menor sea esta relación, mayor es la probabilidad de tratarse de hipoadrenocorticismo.

Las imágenes de ultrasonido son bastante explicativas en diversos aspectos, como en la evaluación de la imagen hepática, que puede evidenciar desde metástasis de un eventual insulinoma, hasta alteraciones en el parénquima sugestivas de insuficiencia hepática, como las observadas en la cirrosis. Masas pancreáticas son sugestivas de insulinoma, y frecuentemente metástasis pueden ser identificadas durante el examen. Otros tests específicos, como los ácidos biliares para función hepática, o test de estimulación con ACTH para diagnóstico de hipoadrenocorticismo, o aun la medición sérica de insulina frente a hipoglucemia para diagnóstico definitivo de insulinoma, pueden hacerse necesarios.

Tratamiento de la hipoglucemia

En una crisis de hipoglucemia en pequeños animales se debe administrar azúcar por vía oral o un alimento dulce antes de llevar al veterinario. La administración de comidas frecuentes puede minimizar la aparición de los signos clínicos. En un ambiente hospitalario la administración de bolos de glucosa por vía intravenosa es la forma más rápida de revertir una hipoglucemia. Lo ideal es evitar la administración de la glucosa pura por vía endovenosa, dado el riesgo de flebitis, debiéndose diluir al menos dos veces la glucosa a ser administrada. La dosis preconizada de glucosa en bolo es de 1 mL/kg de una solución de glucosa al 50 % diluida en una solución isotónica, como cloruro de sodio al 0,9 %. Esto puede ser suficiente para revertir la hipoglucemia, pero dependiendo de la causa, podría no serlo. En estos casos la repetición de dicho protocolo algunas veces puede ser útil. Se debe mantener a los pacientes en fluido glucosado (2,5 % a 5 %) durante algunas horas después de la resolución de los signos clínicos, con el objetivo de mantener al paciente normoglucémico. Se debe suspender el uso de solución glucosada si una hiperglucemia es evidente, sobre todo con el objetivo de evitar trastornos neurológicos y glucosuria. En rumiantes se utilizan soluciones endovenosas de dextrosa 5 % o *drench* oral por sonda esofágica con propilenoglicol.

Dependiendo de la intensidad, la hipoglucemia puede ser fatal, en especial si existe compromiso de áreas importantes del SNC. Esto puede acarrear la permanencia de secuelas como sordera, ceguera, coma, incoordinación o cambios conductuales después de la resolución de la hipoglucemia. En estos casos se recomienda la aplicación de un tratamiento para reducir el edema cerebral, a través de la administración endovenosa de fosfato sódico de dexametasona (1-2 mg/kg), manitol (0,5-1 g/kg) y furosemida (1-2 mg/kg). El manejo de la hipoglucemia a largo plazo dependerá de la causa. Para evitar la recidiva de hipoglucemia debe resolverse el problema inicial, como, por ejemplo, la alimentación frecuente y el tratamiento adecuado de las enfermedades asociadas a los cachorros, o la reducción de la dosis de insulina de un paciente diabético, o la retirada de un tumor secretor de insulina.

Hipoglucemia de los lechones

El lechón recién nacido es particularmente susceptible de sufrir hipoglucemia si no se alimenta en las primeras horas de vida. La glucosa sanguínea en los lechones, que después del nacimiento presentan niveles elevados (130 mg/dL), puede caer a menos de 40 mg/dL en 24 a 36 horas. El lechón acometido por hipoglucemia presenta apatía y debilidad, y en la evolución del cuadro convulsiones, coma y muerte. Las reservas de glucógeno hepático en estos animales, a pesar de ser bastante altas al nacimiento, pues corresponden a 15 % del peso del hígado, se agotan rápido. En este aspecto difieren de terneros, potros y corderos, que pueden sufrir ayuno hasta por una semana sin presentar hipoglucemia que comprometa la vida. Con la depleción de las reservas de glucógeno hepático los neonatos se tornan más dependientes de la gluconeogénesis para obtener glucosa. El problema en los lechones parece ocurrir porque las enzimas de la vía gluconeogénica, especialmente la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEP-CK), no están plenamente activas después del nacimiento, debiendo ser estimuladas o inducidas por la alimentación inicial. La falta de alimentación inicial en el lechón puede ser debida a problemas que acometan a la madre, como agalactia, metritis y mastitis, o del lechón, como anemia o infecciones. Algunos días después del nacimiento y con adecuada alimentación el lechón adquiere progresivamente la capacidad para soportar la falta de alimento; así, con diez días de edad difícilmente sufrirá de hipoglucemia si enfrenta ayuno.

Insulinoma

El insulinoma es un tumor secretor de insulina de forma autónoma e independiente de la concentración de glucosa plasmática, principal regulador de la secreción de insulina. La localización de estos tumores es pancreática, a partir de células beta, pese a que tumores extrapancreáticos rara vez presentan secreción autónoma de insulina. Puede ocurrir hipoglucemia secundaria a síndromes paraneoplásicos asociados a tumores como carcinoma hepatocelular, hepatomas, leiomiosarcoma, leiomioma, hemangiosarcoma, melanoma o leucemia. La gran mayoría de los insulinomas es maligno, ocurriendo una elevada tasa de metástasis. Cerca del 50 % de los casos presentan metástasis al momento del diagnóstico inicial y los locales más comunes de metástasis son hígado, linfonodos regionales y omento.

Presentación de insulinoma

El insulinoma ha sido observado en humanos, perros y rumiantes jóvenes. De forma general, es bastante rara la ocurrencia de insulinomas en perros, y más rara todavía la ocurrencia en gatos, con apenas algunos relatos en el mundo respecto a esta especie. En los perros la enfermedad es observada en animales de media a avanzada edad, a pesar de haber relatos de insulinoma en perros con 3,5 años. Algunas razas parecen más predispuestas, como Pastor Alemán, Boxer, Poodle Standard, Collie, Fox y Setter. El motivo de la consulta de un perro con insulinoma son signos de neuroglucopenia y activación adrenérgica secundaria a hipoglucemia. Las convulsiones son el signo clínico más común debido a la dependencia del SNC por glucosa como fuente de energía. A pesar de esto, muchas veces la queja de los propietarios se refiere a dificultades ambulatorias o simplemente a temblores musculares y desmayos. Los signos clínicos suelen ser episódicos y asociados a valores muy bajos de glucemia. Estos pacientes pasan el día entero con glucemias inferiores a 60 mg/dL, aunque los signos clínicos irán a surgir solo cuando la glucemia baja a valores críticos, que varían según el paciente. Además, puede haber modulación en la magnitud de la hipoglucemia necesaria para provocar signos clínicos. Algunas situaciones pueden exacerbar o provocar signos clínicos de hipoglucemia, como ayuno prolongado, ejercicios, estrés o por más antagónico que parezca, la ingestión de alimentos. Esto ocurre por razones distintas. Por ejemplo, un paciente en ayuno prolongado depende de la gluconeogénesis para mantener la glucemia. La insulina inhibe esta vía y estimula la continua captación y metabolización de glucosa por las células, culminando en hipoglucemia clínica frente a un ayuno prolongado. La práctica de ejercicios presenta un efecto hipoglucemiante típico, al estimular la translocación de transportadores GLUT-4 para la membrana celular en el tejido muscular. Este fenómeno asociado a la hiperinsulinemia provoca signos clínicos en pacientes con insulinoma. Situaciones de estrés (baños en estéticas caninas, ausencia del dueño en casos de ansiedad por separación, visitas, contacto con otros animales), que en general son difíciles de evaluar, provocan hipoglucemia porque durante el estrés ocurre liberación de hormonas hiperglucemiantes como adrenalina y cortisol. Este aumento en la concentración de glucosa acaba siendo un estímulo para mayor secreción de insulina por el tumor, desencadenando signos de hipoglucemia

secundariamente. Una situación similar ocurre en el período posprandial, especialmente si la dieta es rica en glúcidos simples y administrada en gran cantidad, lo que resulta en un aumento significativo de la glucemia, con consecuente rebote hipoglucémico posterior.

La severidad y duración de los signos clínicos dependen principalmente de tres factores: el valor más bajo de glucemia, la tasa de reducción de la glucemia y la duración de la hipoglucemia. Es común la presentación de los pacientes después de meses de evolución de los síntomas, y muchas veces después de pasar por varios veterinarios sin que haya sido hecho un diagnóstico definitivo, lo que acaba haciendo que un elevado grado de metástasis esté presente al momento del diagnóstico. Es importante, a través de la completa evaluación del paciente, incluso con exámenes complementarios, descartar otras causas de hipoglucemia. Perros con insulinoma por lo común son obesos o presentan sobrepeso, efecto que es secundario a los efectos de la insulina, potente hormona anabólica y lipogénica.

Diagnóstico de insulinoma

Es relativamente simple el diagnóstico de un insulinoma. Basta demostrar la existencia de hiperinsulinemia frente a una hipoglucemia. Fisiológicamente la secreción de insulina es abolida frente a glucemias menores de 30 mg/dL. De esta forma, para un adecuado diagnóstico se recoge una muestra de sangre para determinación de insulina (referencia: 5 a 20 µU/mL) con el paciente presentando glucemia inferior a 50 mg/dL. Entre más baja la glucemia, mayor la probabilidad del diagnóstico por la determinación de una hiperinsulinemia, de acuerdo a la **Tabla 5.3**.

Tabla 5.3 Probabilidad de insulinoma en pacientes con glucemia inferior a 50 mg/dL

Concentración sérica de insulina (µU/mL)	Probabilidad de insulinoma
> 20	Elevada
10 a 20	Posible
5 a 10	Pequeña
< 5	Descartada

Esta guía sirve solamente para evaluación de pacientes cuyas muestras de sangre con la finalidad de determinar la insulina fueron recogidas frente a glucemias inferiores a 50 mg/dL. La evaluación de insulinemia frente a glucemias superiores a 60 mg/dL no es confiable para diagnosticar un insulinoma. La detección de hipoinsulinemia frente a hipoglucemia descarta la posibilidad de tratarse de un insulinoma, pues esta es la respuesta fisiológica normal. No obstante, muestras hemolizadas pueden provocar resultados falsamente reducidos de insulina, una vez que la lisis de los eritrocitos libera una insulinasa capaz de degradar la insulina sérica. La determinación sérica de fructosamina asociada a la albúmina puede auxiliar en un diagnóstico presuntivo, e imágenes ecográficas pueden muchas veces evidenciar masas pancreáticas compatibles con tumoración. Exámenes de imágenes más rebuscados, como tomografía computadorizada y resonancia magnética, pueden presentar ventajas comparadas con la ecografía.

Tratamiento de insulinoma

El tratamiento médico de un insulinoma puede ser eficaz y simple en un primer momento, así como ser frustrante, dependiendo de la malignidad del tumor y la capacidad de secreción de insulina. El objetivo de los diversos tratamientos no es normalizar la glucemia del paciente, ya que esto es bastante improbable, sino controlar los signos clínicos del trastorno. Esta meta se alcanza con glucemias consideradas bajas (inferiores a 60 mg/dL). Ante una crisis de hipoglucemia la administración de bolos de glucosa debe ser hecha de forma lenta y gradual a lo largo de cinco-diez minutos. La administración de una gran cantidad de glucosa, de forma rápida, puede exacerbar los signos de hipoglucemia, ya que ocurrirá mayor secreción de insulina. Se debe administrar azúcar en solución en la boca del animal. En caso de que el animal esté inconsciente no se debe intentar que degluta. Cuando el paciente recupere la conciencia, o se restablezca de los signos clínicos, una pequeña alimentación debe ser administrada, mientras se contacta al veterinario. En un ambiente hospitalario se administran de 1 a 5 mL de una solución de glucosa 50 % lentamente, durante diez minutos, y cuando el paciente se normalice se administra una pequeña refección.

Las crisis convulsivas que no responden a las medidas descritas representan un pésimo pronóstico

e indican que se trata de un tumor bastante agresivo y con alta tasa de secreción de insulina. En estos casos se puede intentar estabilizar al paciente con administración de glucosa de 2,5% a 5% por vía intravenosa manteniendo fluido constante y adicionando 0,5 a 1 mg/kg de dexametasona al fluido administrado a lo largo de seis horas. Cada doce o veinticuatro horas este procedimiento puede ser repetido si hay necesidad. Si no hay éxito, se puede administrar glucagón en infusión continua en dosis de 5 a 10 ng/kg/min. Análogos de la somatostatina, como octreotida, pueden ser administrados en la dosis de 10 a 50 µg por vía subcutánea cada ocho a doce horas. Si no hay respuesta a estas terapias, y si una cirugía no es posible para remover el tumor, es improbable evitar la evolución para óbito.

Después del diagnóstico el tratamiento inicial de un paciente con insulinoma tiene por objetivo reducir las fluctuaciones de la glucemia, para evitar que aumentos en la glucosa sanguínea provoquen hipoglucemia debido a la mayor secreción de insulina por el tumor. En este sentido, la administración de refecciones frecuentes con dietas ricas en glúcidos complejos promueve un control adecuado y temporal de pacientes con insulinomas poco activos. La recomendación dietética es la misma que para perros con diabetes mellitus, ya que en este caso el objetivo también es limitar la hiperglucemia posprandial y así evitar las crisis inducidas por la alimentación, pues la hiperglucemia posprandial puede provocar picos de secreción de insulina. Se deben administrar mínimo cuatro pequeñas refecciones por día, siendo a veces recomendable la administración de hasta ocho refecciones diarias, sin sobrepasar las necesidades energéticas del paciente. Si alimentaciones frecuentes de dietas ricas en fibras no son suficientes para controlar o reducir los signos clínicos del paciente luego de algunos días de tratamiento, es necesaria la aplicación de drogas hiperglucemiantes. La principal y más común droga utilizada para el tratamiento de insulinoma a largo plazo es la prednisona/prednisolona. Además de promover antagonismo a los efectos de la insulina, los glucocorticoides estimulan la gluconeogénesis por efecto directo sobre enzimas gluconeogénicas como la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, por ejemplo. La dosis inicial varía de 0,2 a 0,5 mg/kg cada doce horas, y la mejora en la calidad de vida de los pacientes y la remisión de los signos clínicos es fácilmente detectada después de algunos días de medicación. Cuando sea necesario, es posible la administración de dosis mayores, pero los efectos colaterales (hiperadrenocorticismo iatrogénico) son limitantes, volviendo el pronóstico sombrío. De esta forma, es interesante el inicio del tratamiento con la menor dosis eficaz posible. Además de estas conductas, es aconsejable que se evite exponer al paciente a situaciones de estrés o ejercicios, ya que estas situaciones pueden provocar hipoglucemia. Cuando este manejo no da resultados existen opciones clínicas para el tratamiento; sin embargo, el costo es bastante oneroso por la necesidad de importar ciertas drogas útiles para obtener un mejor control del paciente. El diazóxido, un benzotiazídico antihipertensivo no diurético, es una droga que auxilia en el tratamiento de pacientes cuyo tratamiento con dieta y corticoides no está siendo efectivo. El principal efecto de esta medicación es impedir el influjo de calcio intracelular que precede a la secreción de insulina, de esa forma se inhibe la secreción de esta hormona. Sin embargo, el diazóxido no inhibe la síntesis de insulina, a pesar de presentar otros efectos deseables como estimular la gluconeogénesis y la glucogenólisis, e inhibir la captación periférica de glucosa. La dosis preconizada inicialmente es de 10 mg/kg/día, pero puede ir hasta 60 mg/kg/día. Sin embargo, entre mayor sea la dosis, mayor es la probabilidad de ocurrencia de efectos indeseables como vómitos, anorexia, y otros efectos tóxicos (aplasia de médula, anemia aplástica, retención de sodio, diarrea, taquicardia y, eventualmente, hiperglucemia y cataratas). Estos efectos tóxicos y el costo elevado pueden tornar dicha opción cuestionable. La administración concomitante de hidroclorotiazida en la dosis de 2 a 4 mg/kg/día dividido en dos administraciones por día aumenta la efectividad del diazóxido. La octreotida, un análogo sintético de somatostatina (STT), presenta buenos resultados en el tratamiento de perros con insulinoma. La medicación es inyectable y debe ser aplicada por vía subcutánea cada ocho-doce horas en dosis de 10 a 50 µg/kg. El costo de la medicación es elevado. La única premisa para la eficacia de la octreotida es que el tumor secretor de insulina haya mantenido receptores de membrana para STT. Algunos tumores sufren alteraciones moleculares y pueden no presentar más receptores para esta hormona. Interactuando con sus receptores, la octreotida actúa como un agonista de la STT, estimulando la fosforilación de proteínas inhibitorias que resultan en un efecto final de supresión tanto de la síntesis como de la secreción de insulina. Después de administrada esta droga tiene un efecto

cerca de dos horas después, con pico en cuatro horas y acción máxima de ocho horas.

Otra opción en el ámbito de los tratamientos médicos es la quimioterapia con estreptozotocina (STZ). La STZ es un agente alquilante usado para inducir diabetes en modelos experimentales, ya que promueve necrosis de las células beta pancreáticas. El uso de esta medicación para tratamiento de insulinoma en humanos ya fue descrito en la literatura, así como en perros. No obstante, la medicación es extremadamente tóxica por causar necrosis tubular renal y ser fatal en la mayoría de los perros (modelos de diabetes o tratados para insulinoma). Sin embargo, recientemente un protocolo de diuresis salina agresivo, asociado a múltiples pequeñas dosis de STZ, ha sido preconizado con éxito en perros con insulinoma sin ocurrencia de falencia renal u óbito.

Tratamiento quirúrgico de insulinoma

El tratamiento inicial de elección para el manejo de insulinoma en perros y gatos es quirúrgico. Antes de someter al paciente a la cirugía, un adecuado control de los signos clínicos es necesario. La descripción de las técnicas quirúrgicas aplicables sale del enfoque de esta obra. El objetivo general del tratamiento quirúrgico es remover lo máximo de tejido alterado, sea una masa única en el páncreas, o sitios de metástasis en órganos distintos. Cerca del 90 % de los casos presentan masas únicas fácilmente visibles en una laparotomía exploratoria. En algunos casos no es posible identificar anormalidad durante un abordaje quirúrgico, aun en presencia de hipoglucemia e hiperinsulinemia. En estos casos, a veces después de meses o años surge alguna alteración (masa pancreática) visible o palpable. Estos pacientes suelen vivir relativamente bien por meses, a veces años, apenas con tratamiento médico. Por esta razón no se recomienda eutanasia en los casos en que en el abordaje quirúrgico se detectan diversas metástasis o tumores no operables, pues todavía existen posibilidades terapéuticas para estos pacientes.

La pancreatitis es la principal complicación del tratamiento quirúrgico, y algunas medidas, además de la manipulación suave del páncreas, son recomendables con el objetivo de reducir la ocurrencia de pancreatitis, observada en cerca de 15 % de los animales operados. La administración de fluidos con glucosa entre 2,5 % a 5 % (60 a 100 mL/kg por día) y nada por vía oral antes, durante y después de 24 a 48 horas de la cirugía, seguido de administración de dietas pobres en grasa durante la siguiente semana, minimizan bastante la probabilidad de ocurrencia de pancreatitis. La reintroducción de alimentos por vía oral debe iniciarse lentamente 24 a 48 horas después de la cirugía a través de administrar pequeñas cantidades de agua, y según la respuesta clínica del paciente. Otras complicaciones de la retirada de un tumor pancreático son: diabetes mellitus (por la atrofia de las demás células beta pancreáticas, lo cual es temporal) e hipoglucemia persistente (resultado de la actividad de metástasis no identificadas durante la cirugía). La respuesta clínica frente a un tratamiento quirúrgico realizado con éxito es excelente y recupera plenamente la calidad de vida del paciente, promoviendo la cura del problema. Sin embargo, debido al elevado grado de malignidad de estos tumores, y las metástasis comúnmente presentes al momento del diagnóstico por la demora observada en llegar a un diagnóstico definitivo, la cura es temporal en la mayoría de los casos. Pacientes que tuvieron su problema resuelto con cirugía deben permanecer persistentemente con glucemias superiores a 70 mg/dL. La fructosamina sérica es otra herramienta útil para el control del tratamiento. No obstante, cerca de 10 % a 15 % de los casos sufren eutanasia o mueren después de la cirugía en razón de una severa enfermedad metastásica, y 20 % a 25 % de los casos mueren o sufren eutanasia en hasta seis meses por los mismos motivos. El porcentaje restante (60 % a 70 % de los casos) vive sin signos clínicos por más de seis meses, a veces más de un año, antes de la recidiva de los signos clínicos. De forma general, la sobrevida promedio poscirugía varía de seis a dieciocho meses según el estado del tumor y la detección de metástasis durante la cirugía.

Síndrome de la vaca caída

Este trastorno, también denominado paresia idiopática de la vaca parida, está caracterizado porque el animal al final de la gestación o en el posparto temprano es incapaz de levantarse espontáneamente.

Etiología

No se conoce la etiología de este padecimiento, aunque hay predisposición en animales con deficiencia de energía, con gestaciones gemelares, en edad avanzada, en animales de alta producción, en vacas con exagerado intervalo entre partos, o con excesiva condición

corporal al parto (mayor que 4,0), en casos de lesiones traumáticas peripélvicas en el parto, en lesiones de los nervios isquiático y obturador y en necrosis isquémica de grandes masas musculares por traumatismos. Una reciente hipótesis señala que estados de hipocalcemia aumentan la permeabilidad de la membrana celular de las fibras musculares, permitiendo la pérdida de potasio de la célula y causando miotonía, base celular del síndrome de la 'vaca caída'. Esa opinión es respaldada por los altos niveles séricos y bajos niveles musculares de potasio observados en animales en decúbito.

Signos clínicos del síndrome de la vaca caída

Los animales afectados pueden no presentar signos clínicos evidentes, como fiebre, falta de apetito o pérdida de la conciencia, y conservar los reflejos podal y caudal. En algunos animales puede haber elevación de la frecuencia cardiaca o incluso arritmia y taquicardia. La función renal puede presentar proteinuria por causa de la severa lesión muscular. En otros animales los signos clínicos son más severos, con decúbito lateral y la cabeza volteada para atrás, que con el tiempo puede terminar en leve tetania y pérdida de la conciencia por daño cerebral. La sintomatología clásica de la paresia idiopática con actividad sensorial se manifiesta por caída intempestiva del animal pocos días antes del parto o hasta cinco días después. Al inicio la producción de leche no sufre disminución considerable. El curso del trastorno es agudo con el cuadro complicándose rápidamente, de forma que si el animal no se levanta en las primeras 72 horas es poco probable que lo logre después, debido a la deficiencia energética por falta de consumo de alimento y el daño muscular por decúbito. El diagnóstico está basado en la caída del animal con presencia de actividad sensorial y por la presentación del cuadro en el periparto, con pronóstico desfavorable. A la necropsia se puede observar lesión traumática de músculos y nervios de las extremidades, miocarditis e infiltración y degeneración grasa del hígado. El decúbito, en bovinos, puede tener diversas causas no siempre posibles de identificar, pudiendo agruparse de acuerdo con su naturaleza en metabólicas, sépticas, reproductivas y traumáticas, para citar algunas. Entre las causas metabólicas están hipocalcemia, cetosis, hipomagnesemia, hemoglobinuria puerperal, coma hepático y desnutrición. Entre 80% y 90% de las vacas que permanecen en decúbito al parto ocurre un cuadro de hipocalcemia, del 70% al 80% de ellas responden al tratamiento con soluciones de calcio, y 10% a 20% no responden al primer tratamiento por complicaciones secundarias. El diagnóstico diferencial envuelve otras enfermedades que causan decúbito, tales como leucemia, traumas, tetania, coma hepático, cetosis, caquexia y enfermedades consuntivas (paratuberculosis, salmonelosis, hemoparásitos). En la bioquímica sanguínea se observan valores normales de calcio, fósforo, magnesio y glucosa. Los niveles de creatina quinasa (CK), aspartato transaminasa (AST) y potasio pueden estar muy elevados, sobre todo en las primeras veinticuatro horas del decúbito, y continuar aumentando en los días siguientes por cuenta del daño muscular continuo.

Tratamiento del síndrome de la vaca caída

El tratamiento es paliativo, suministrando cantidades considerables de soluciones multiminerales, procurando mantener altos niveles de calcio y fósforo. Debe ser administrada una fuente energética, como propilenglicol, y evaluado el pronóstico mediante perfiles bioquímicos (enzimas) para justificar o no la eutanasia. La detección y el tratamiento oportunos deben reducir la incidencia y gravedad del síndrome. En condiciones ideales las vacas deben ser tratadas durante la primera etapa de la paresia puerperal antes que el decúbito lateral ocurra. Si los animales están alertas, y el caso tiene menos de veinticuatro horas, es urgente el tratamiento inmediato y procurar dejar al animal en cama o en una superficie blanda y seca, además de provocar movimiento continuo mediante lazos. Son frecuentes secuelas como mastitis y retención de placenta, con severas consecuencias sobre la reproducción posterior.

Laminitis

Este trastorno metabólico también se conoce como pododermatitis puerperal tóxica. Hasta hace poco era considerada una patología de los equinos, pero actualmente se considera en bovinos como una respuesta alérgica a situaciones de acidosis metabólica, retención de placenta o metritis. La laminitis es la inflamación de la lámina propia del corion con curso agudo, la cual ocasiona lesiones en el casco, dolor marcado y lesión podal, dejando al animal en decúbito, inapetente y con fiebre continua. La enfermedad es más frecuente alrededor del parto o hasta 72 horas después de la indigestión con granos (acidosis). Estas afecciones podales están presentes en todo tipo de producción, sea pastoril o confinada. Se puede afirmar que, después

de los problemas reproductivos, de la mastitis y de los problemas en la calidad de la leche, la laminitis es una de las causas que más afectan la productividad de las vacas lecheras, provocando importantes pérdidas económicas.

En bovinos, el trastorno es más común en animales jóvenes, pero se observa también en adultos. Ocurre principalmente en animales que pasan a recibir dietas con granos sin adaptación previa a este tipo de alimento y en vacas lecheras que ingieren cantidades excesivas de alimentos concentrados. También ocurre esporádicamente en bovinos de corte preparados para exposiciones y en toros de centrales de reproducción, los cuales presentan la forma crónica de la enfermedad, que afecta la marcha y puede causar lesiones permanentes en los cascos. La prevalencia a menudo está asociada a brotes de acidosis, mas no siempre se observan signos clínicos. Es una enfermedad endémica en algunos rebaños lecheros de alta producción y en animales de engorde, asociada a acidosis ruminal clínica o subclínica.

Los casos de laminitis subclínica, que predisponen al desarrollo de otras enfermedades del casco, ocurren también en terneros y novillas de primera cría. La ocurrencia de laminitis condicionada por la herencia de un gen recesivo autosómico en novillas de la raza Jersey es citada en la bibliografía, pero en la rutina clínica el diagnóstico es difícil de realizar. Por otro lado, la conformación corporal de los individuos que pueden tener conexión a la genética: dígitos pequeños con relación al peso corporal, poca angulación del casco, además del sobrepeso, pueden favorecer la ocurrencia de laminitis.

En general, entre los bovinos lecheros las novillas son las más acometidas y la enfermedad se presenta comúnmente poco después de la parición (hasta los tres primeros meses posparto), ocurriendo en más del 50 % en los primeros treinta días después de este. Puede haber relación entre la introducción de un animal nuevo en el rebaño, a menudo molestado por las vacas dominantes. Los sistemas tipo *free-stall* o *tiestall* en suelo de hormigón, sobre todo si es abrasivo o deteriorado, así como la falta de ejercicio de la vaca sometida al confinamiento en estos sistemas, alta carga animal, cama de mala calidad, acumulación de humedad, heces, barro y estrés calórico, son condiciones que pueden causar incomodidad a la vaca, predisponiendo a cuadros clínicos de laminitis.

Etiología de la laminitis

La etiología de la laminitis es tan variada como incierta: desde causas infecciosas, genéticas, traumáticas, de manejo, topográficas o ambientales, hasta nutricionales (exceso de proteína y de glúcidos), por cambios bruscos en la dieta, o por deficiencia de aminoácidos esenciales, de selenio, cobre y vitamina E, entre otros. El origen de este trastorno vascular puede ser por una coagulación intravascular, producto de las toxinas bacterianas cuando el caso es infeccioso, o por acúmulo de lactato y lesión distal en los miembros afectados. Las causas nutricionales sobre la patología podal de la vaca lechera pueden ser divididas en dos grandes grupos: (a) errores en la alimentación o contaminación de los alimentos, que producen disturbios en el metabolismo del tejido podal; y (b) deficiencias nutricionales específicas que pueden disminuir la capacidad de defensa física o inmunológica de los tejidos podales. Esas causas reconocen dos orígenes: (1) sustancias producidas por alteración en la fermentación ruminal (ácido láctico, amonio, histamina, endotoxinas bacterianas), o (2) sustancias tóxicas presentes en alimentos mal conservados (subproductos de destilería, cama de pollo y micotoxinas, entre otros).

Los principales factores de riesgo que favorecen el desencadenamiento de la laminitis son:

— Consumo exagerado de alimentos concentrados, con altos niveles de glúcidos y proteína, por encima del 60 % de la materia seca, en especial cuando ocurre un cambio brusco de la ración de mantenimiento para ración de producción o suministro de pienso a animales no adaptados, como es el caso de las novillas recién paridas. Estas condiciones de dieta, que favorecen la alta fermentación en el rumen, pueden llevar a una acidosis ruminal. Cuando la acidosis ruminal tiene una evolución crónica y persistente ocurre como consecuencia la laminitis, con discretos signos clínicos, debido a la producción y absorción de toxinas bacterianas y otras sustancias vasoactivas que, actuando en la microcirculación podal, causan isquemia en las láminas dérmicas de los dígitos.

— Los granos de la ración muy molidos (partículas con longitud menor de 2,5 cm), condición que reduce la rumia y, en consecuencia, la producción

de la saliva, que es un importante tamponante del contenido ruminal, lleva a riesgo de acidosis ruminal.

— Reducido suministro de voluminosos y de calidad con relación al concentrado.

— Presencia de micotoxinas en la ración.

— Infecciones sistémicas como metritis, reticuloperi-carditis e inflamación de los estómagos.

— Mala formación en los cascos y defectos de aplomo.

Signos clínicos de la laminitis

Los signos clínicos son característicos y facilitan su diagnóstico: dolor y calor a la palpación del casco y aumento de las pulsaciones de las arterias digitales. El diagnóstico diferencial debe considerar lesiones musculares, reumatismo y parálisis del nervio radial, aunque en esos casos no hay dolor ni aumento del pulso arterial. En el organismo puede haber indicios de acidosis o de infección uterina. Una situación única en casos de laminitis es la rotación de la tercera falange.

La lesión de la laminitis es la separación de las láminas epidérmicas del casco de las láminas sensitivas (láminas dérmicas y corion laminar) de la tercera falange. Las alteraciones hemodinámicas ocurren en los capilares digitales presentes en las láminas dérmicas y en el corion laminar del casco. Estas estructuras son las últimas que reciben suministro sanguíneo y tienen mínima circulación colateral, siendo las porciones más sensibles a la isquemia, que resulta por aporte insuficiente de nutrientes e inadecuada formación de las láminas epidérmicas. Esas lesiones resultan en separación y pérdida del estuche córneo, especialmente en la forma aguda de la enfermedad. Debajo del tejido córneo existe una red completa de vasos sanguíneos que pueden sufrir daños serios, incapacitando los tejidos responsables de la producción de tejido córneo de la uña. Con esto, el tejido córneo se deteriora, volviéndose muy vulnerable. Ocurre salida de líquido de los vasos sanguíneos y la parte blanda del casco aumenta de volumen, causando mucho dolor y desasosiego para el animal. En la forma crónica ocurre una respuesta proliferativa de los queratinocitos, que lleva a la hiperplasia de las láminas epidérmicas y, en consecuencia, al crecimiento anormal y deformación de los cascos. Se debe sospechar de laminitis subclínica cuando: (a) más del 10 % de las vacas adultas muestran claudicación en el per*í*odo de un año por causas que no sean flegmón interdigital o dermatitis digital papilomatosa; (b) más de 50 % de todos los casos de claudicación ocurren en los primeros sesenta días de posparto; (c) más del 5 % de las vacas presenta úlcera de la suela; (d) más del 25 % de las vacas en lactación tienen hemorragia de la suela, y (e) hay alta prevalencia de erosión de los talones, doble suela o fisuras del estuche córneo.

Tratamiento de la laminitis

El tratamiento se basa en la eliminación del agente etiológico, por lo general supresión de granos y uso de antihistamínicos y/o corticosteroides durante dos a tres días y de antibióticos en el caso de infección. Se recomienda el uso de metionina, aminoácido esencial para la formación del colágeno, ducha fría en los miembros afectados, terapia líquida y analgésicos, laxantes o diuréticos.

El porcentaje de curación y la rápida recuperación de las lesiones puede ser alto si se efectúan intervenciones correctas. El tratamiento debe iniciarse lo más rápido posible, buscando eliminar la causa o factor predisponente y el alivio del dolor. La primera medida después de la constatación del problema es la remoción del animal a un piquete con forraje y agua de buena calidad, sin oferta de concentrado. Cuando la causa está asociada al trastorno del sistema digestivo hay que combatir la toxemia, el individuo debe ser mantenido hidratado y en equilibrio ácido-básico. Por lo tanto, la causa primaria (metritis, acidosis ruminal, entre otras) requiere ser tratada intensivamente.

El control del dolor se debe hacer a base de analgésico y antiinflamatorios no esteroides (AINE): ácido acetilsalicílico (15 a 100 mg/kg, vía oral, dos veces al día), flunixin meglumine (1,1 a 2,2 mg/kg/día, endovenoso, durante tres días) o fenilbutazona (4,5 a 9,0 mg/kg, endovenoso o intramuscular, cada 48 horas, o 10 mg/kg vía oral cada 48 horas, repitiendo dos o tres veces).

Puede ser utilizada en la laminitis aguda, en las primeras 48 horas del cuadro clínico, terapia con aplicación de agua helada en los miembros afectados.

Este procedimiento ha de realizarse colocando al animal en un lugar que permita sumergir los miembros hasta la altura del carpo/tarso, manteniéndolo por seis horas de tratamiento, con una hora de reposo.

En los casos más graves los procedimientos son quirúrgicos y requieren anestesia local. La técnica anestésica más utilizada es la inyección endovenosa de un anestésico local (alrededor de 10 a 20 mL de lidocaína al 2%), aplicado en la vena digital dorsal plantar (o palmar) después de la colocación de torniquete (manguito de goma) en la región metacarpiana (o metatarsiana). Los casos de procesos purulentos, independientemente de la ubicación, deben ser tratados mediante resección de la lesión y drenaje del exudado con eliminación de los tejidos necrosados. Cuando existe tejido de granulación, es necesario extraerlo. Muchas veces es aconsejable el uso de antibioticoterapia parenteral durante tres días, y amputación de la falange si el proceso es grave y profundo. El corte de la uña lesionada es a menudo recomendado, ya que permite el descanso y el alivio del peso. Su retirada total debe realizarse siempre con una legra afilada, procurando provocar el mínimo de hemorragia, pero promoviendo una limpieza profunda de los tejidos necrosados, solo así se podrá esperar una cicatrización rápida y adecuada. En los casos de úlceras de la suela es necesario reducir al máximo la presión, haciendo un recorte adecuado y resección del tejido de granulación. En caso de que el clínico resuelva usar vendajes, estos deben ser renovados periódicamente para mantenerse secos, lo cual puede ser un buen recurso terapéutico. La tasa de recuperación con el uso de vendajes es mayor sobre todo en las dos primeras semanas de tratamiento. Algunos clínicos, sin embargo, optan por no utilizar vendajes debido la presión sobre la lesión y la humedad en el lugar, lo que podría propiciar infección secundaria y retraso de la cicatrización.

La erosión del talón ha de ser tratada por remoción de los tejidos córneos necrosados, retirada de las fisuras (si están presentes), aplicación de astringentes o antibióticos en spray y alojamiento del animal en un lugar limpio y seco.

Para las úlceras de pinza no existen referencias consistentes de tratamiento. Eliminar el apoyo del casco enfermo es a menudo la clave del tratamiento de las lesiones podales. La curación puede ser obtenida por la colocación de tacos en las uñas sanas y, con ello, aliviar el dolor y la presión sobre la uña enferma. Esta conducta debe realizarse después de haber hecho la nivelación de las uñas sanas, a fin de mejorar su apoyo, con lima manual o disco de lija adaptado a taladro eléctrico. El taco de 11 a 13 cm de longitud por 2,5 cm de espesor debe fijarse con cola o clavos de herradura.

En la laminitis crónica en bovinos, así como en todos los tipos de laminitis en equinos, la recuperación del animal es bastante larga y el pronóstico, muchas veces, incierto, dependiendo del origen del problema (alimentario o infeccioso). En bovinos el pronóstico es favorable. Las claudicaciones ceden hasta en 72 horas, a menos que sufran procesos necrosantes.

Control de la laminitis

Se deben tomar en consideración los siguientes aspectos para el control de la laminitis: (1) el mantenimiento de los cascos; (2) alimentación con raciones adecuadas; (3) contenido de fibra detergente ácido (FDA) de al menos 21% de la materia seca, y fibra detergente neutro (FDN) de al menos 28% de la materia seca; (4) como máximo, el 40% de la composición de la ración debe ser de glúcidos no estructurales (granos).

Para evitar la aparición de la enfermedad, la alimentación de los animales con granos debe ser controlada, asociándose forraje verde a la dieta. Uno de los mejores métodos para prevenir es la adopción de medidas que eviten la acidosis láctica ruminal, lo que puede hacerse mediante un adecuado esquema de adaptación para animales que reciben dietas altamente concentradas y el uso de productos alcalinizantes (bicarbonato o carbonato de calcio) en la ración.

Evitar el confinamiento de animales muy jóvenes también puede ser indicado para disminuir la incidencia de la enfermedad, debido al efecto deletéreo sobre la salud de los cascos en bovinos de corte menores de 14 meses de edad.

Una protección contra la laminitis en bovinos bajo manejo intensivo es obtenida adoptando medidas de cuidado con los cascos, como el recorte periódico, así como la planificación cuidadosa del piso de los establos y locales donde los animales son mantenidos o manejados, haciéndolos más cómodos y menos perjudiciales para los cascos.

La suplementación en la dieta con biotina (20 mg/animal/día) o con minerales puede disminuir la incidencia de daños en los cascos en vacas lecheras, pero estas alternativas deben ser consideradas para cada propiedad, de acuerdo con la severidad de la ocurrencia, a fin de evaluar la eficacia como estrategia profiláctica, al igual que considerar costos y beneficios.

Desplazamiento de abomaso

El desplazamiento de abomaso (DA) consiste en un reposicionamiento del cuarto estómago de los bovinos con relación a la línea media ventral. La situación se deriva de la dilatación del abomaso por gas o por agua, que lleva a una migración de su posición normal. La torsión ocurre con mayor frecuencia (90 %) en el lado izquierdo que en el lado derecho. Este trastorno se presenta en animales bajo estrés o sometidos a dietas ricas en granos. Se reporta como desorden digestivo en 5 % de las vacas que paren. La ocurrencia del desplazamiento de abomaso para la izquierda o para la derecha es comúnmente encontrada en animales de porte grande y de alta producción lechera después del parto. Aproximadamente 90 % de los casos ocurren hasta seis semanas después del parto. La prevalencia del trastorno varía dependiendo de la localización geográfica, las prácticas de manejo y el clima, entre otros factores. La pérdida económica relacionada incluye baja en la producción de leche durante el período de convalecencia y costo de la cirugía.

Etiología del desplazamiento de abomaso

La torsión de abomaso está asociada a problemas en el manejo alimentario, tales como exceso de granos en el período de transición (periparto), pobre calidad del alimento, estrés medioambiental o social, hipocalcemia, retención de placenta, metritis, cetosis, condición corporal por encima de 4,0 al parto con rápida pérdida de condición corporal en el posparto inicial, mezclas inadecuadas en el tamaño físico de la partícula en RTM y bajo contenido de fibra (menor que 21 % de FDN). El desplazamiento de abomaso es un síndrome multifactorial en que la atonía abomasal es un prerrequisito absoluto para su ocurrencia. El gas producido por la fermentación microbiana distiende el abomaso y provoca el desplazamiento. Entre los muchos factores asociados a la torsión de abomaso el tipo de dieta es de los principales causantes. Altos niveles de concentrado o glúcidos fermentables disminuyen las contracciones del abomaso y aumentan la producción de ácidos grasos volátiles que se acumulan en este órgano, llevando a la distensión por acúmulo de gas. La patogenia del desorden digestivo se asocia con disminución de la contracción del músculo liso, razón por la cual la hipocalcemia puede ser una de las causas.

Factores predisponentes del desplazamiento de abomaso

Existe una relación directa entre el balance energético negativo en el preparto, reflejado por aumento en la concentración de ácidos grasos no esterificados, y la ocurrencia de desplazamiento de abomaso hacia la izquierda. Vacas alimentadas con dietas altamente energéticas (mayor que 1,65 Mcal de energía líquida/kg de materia seca) durante el período seco se vuelven obesas, lo que puede ocasionar descenso en el consumo de materia seca después del parto. La cetosis diagnosticada antes del desplazamiento de abomaso también está bastante asociada a la ocurrencia de este trastorno, toda vez que ocasiona reducción en el consumo de materia seca, lo cual reduce el relleno ruminal, disminuyendo la motilidad de los demás estómagos y, potencialmente, la motilidad del abomaso. Un volumen ruminal pequeño ofrece menos resistencia para el desplazamiento de abomaso. El suministro de altos niveles de concentrado (granos) aumenta la tasa de pasaje ruminal, lo que causa aumento en la concentración de ácidos grasos volátiles y puede inhibir la motilidad del abomaso. El gran volumen de metano y dióxido de carbono encontrado en el abomaso luego de la ingestión de granos puede quedar retenido en esta cavidad del estómago, causando su distensión y desplazamiento. Una concentración de fibra bruta en la dieta menos que 16 % - 17 % es considerada un factor predisponente al desplazamiento de abomaso. En el desarrollo del trastorno está el hecho de que, después del parto, con la salida del ternero y de los fluidos, existe una predisposición anatómica para que el abomaso se desplace al espacio vacío. Existen enfermedades asociadas que predisponen al desplazamiento de abomaso, resultando en anorexia e inapetencia, con disminución del volumen ruminal. Úlceras abomasales, cetosis y lipidosis hepática son enfermedades asociadas con desplazamiento de abomaso. La cetosis es el trastorno que más comúnmente se asocia al desplazamiento de abomaso. Factores estresantes, como altas temperaturas o humedad, pueden

predisponer al desplazamiento de abomaso, una vez que en los meses de verano se compromete la ingestión de materia seca. El estrés también perjudica el sistema inmune, disminuyendo la respuesta a infecciones, como mastitis y metritis. La heredabilidad de esta patología ha sido estimada en 28%.

Signos clínicos en el desplazamiento de abomaso

El desplazamiento de abomaso para la izquierda ocurre generalmente en el período de dos a ocho semanas del posparto. Animales con esta patología presentan reducción del apetito acompañada por una disminución progresiva en la producción de leche, y pese a una fuerte baja en el consumo de granos, continúan consumiendo forrajes. Puede ocurrir cetosis en diversos niveles de gravedad. Las heces son blandas y disminuidas, con períodos de diarrea. El abdomen se muestra colapsado en la pared lateral izquierda, pues el rumen se encuentra desplazado medialmente. La temperatura rectal y las frecuencias cardiaca y respiratoria se encuentran normales en la mayoría de los casos. Puede ocurrir una arritmia cardiaca provocada por la alcalosis metabólica, mas tan pronto se realiza la corrección del desplazamiento la frecuencia cardiaca vuelve a los parámetros fisiológicos. Los movimientos ruminales se ven disminuidos en frecuencia e intensidad. Al examen de palpación rectal puede sentirse un vacío de la porción superior derecha del abdomen. Animales con un cuadro agudo de vólvulo se echan por 24 horas después del episodio, y la muerte ocurre entre 48-96 horas después debido al *shock* y la deshidratación. La ruptura del abomaso puede ocurrir y ocasionar muerte súbita.

En el desplazamiento de abomaso para la derecha la sintomatología es casi siempre más aguda, con alteración grave del estado general debido a la ocurrencia de torsión del órgano. Las heces pueden estar líquidas o ausentes. El flanco derecho podría presentarse aumentado de volumen, siendo que en algunos casos el abomaso desplazado puede ser palpado a través del examen rectal. Estos animales se encuentran muy deprimidos, con graves alteraciones del equilibrio ácido-básico, hipotermia y disfunción cardiaca. Es común la asociación del desplazamiento de abomaso con enfermedades como metritis, mastitis, retención placentaria e hipocalcemia. Así, además de la evaluación del sistema digestivo, deben ser diagnosticadas posibles alteraciones asociadas, las cuales pueden estar actuando como factor predisponente. El desplazamiento de abomaso para la izquierda o para la derecha no complicado, no representa un riesgo inmediato de vida para el animal, excepto cuando se acompaña de torsión del órgano. La torsión del abomaso cuando es completa provoca supresión de la irrigación del órgano, con riesgo de necrosis y producción de toxinas, de manera que el animal presenta grave alteración de estado general.

Patología clínica en el desplazamiento de abomaso

En el hemograma de animales con desplazamiento de abomaso a la izquierda no existe una alteración drástica de los valores normales. Puede haber una leve hemoconcentración con elevación de los valores de hemoglobina y albúmina. En animales con desplazamiento de abomaso a la derecha o vólvulo, ocurre hemoconcentración, así como alcalosis metabólica, con hipocloremia e hipocalemia. En el hemograma pueden ser encontradas, en el estadio inicial, estructuras compatibles con estrés en la diferenciación de leucocitos (neutrofilia y leucopenia). En estadios más prolongados de vólvulos puede haber leucopenia con neutropenia debido a la necrosis isquémica del abomaso y comienzo de peritonitis. La evaluación de la frecuencia cardiaca, estado de deshidratación, período de inapetencia y actividad sérica de la fosfatasa alcalina son buenos indicadores del pronóstico prequirúrgico. Valores de AST por encima de 180 U/L y valores de β-hidroxibutirato entre 1,0-1,6 mmol/L pueden estar asociados con ocurrencia de desplazamiento de abomaso. La hipocalcemia también es una patología predisponente al desplazamiento de abomaso. Los niveles sanguíneos de calcio afectan directamente la motilidad del abomaso. La motilidad abomasal puede estar comprometida con niveles sanguíneos de Ca total inferiores a 5,0 mg/dL. La hiperglucemia es observada debido a la liberación de glucocorticoides, pero también puede aparecer disminuida o normal, sin que esto sea importante para el diagnóstico de desplazamiento de abomaso. Si la glucosa se encuentra aumentada puede haber glucosuria (que ocurre con alguna frecuencia en el desplazamiento a la derecha). Una hiperbilirrubinemia puede ser observada en vacas con desplazamiento de abomaso. En casos de desplazamiento a la izquierda, esta alteración parece ser debido al cambio en la posición anatómica del abomaso y el omento, mientras que en el desplazamiento a la

derecha, esta parece ser debido al reflujo duodeno-abomasal. La cetonuria está presente con relativa frecuencia, revelando la presencia de una cetonemia. Posteriormente, si se mantiene esta situación, puede desarrollarse una acidosis metabólica grave.

Diagnóstico del desplazamiento de abomaso

En los casos de desplazamiento de abomaso hacia la izquierda el diagnóstico puede ser realizado mediante la auscultación y percusión del flanco izquierdo, localizándose el sonido metálico característico de ping. La mayoría de los desplazamientos se encuentra en el medio de una línea imaginaria establecida entre la tuberosidad coxal izquierda y el codo izquierdo. El tamaño y la localización del ping varían de acuerdo a la cantidad de gas contenido, la presión ejercida sobre el abomaso por el rumen y el tamaño del animal. El ping puede estar localizado desde la novena costilla hasta la fosa paralumbar izquierda. En caso de duda sobre el origen del ping entre rumen, cavidad abdominal o abomaso, se puede realizar una aspiración del líquido presente en la región del gas y verificar el pH que debe diferenciar entre rumen (pH 6-7) y abomaso (pH 2-3). En los casos de desplazamiento de abomaso para la derecha las técnicas de diagnóstico son las mismas. Se debe tener el cuidado de diferenciar de otras patologías que puedan provocar el ping en el flanco derecho. La más común es la dilatación y/o torsión de ciego que, por medio de la palpación rectal, puede ser diferenciada. Como auxiliar en el diagnóstico de desplazamiento de abomaso puede ser realizado examen de ultrasonido. En la cavidad abdominal derecha, se observa ventralmente el abomaso, en una porción media el intestino delgado y dorsalmente el hígado. En animales con desplazamiento abomasal a la derecha, el hígado se desplaza de la pared abdominal y no puede ser visualizado, debido a la presencia del abomaso en una posición dorsal. En el desplazamiento a la izquierda se puede percibir un distanciamento entre la pared abdominal y el rumen, debido a la localización del abomaso entre estas estructuras, cuando se realiza ultrasonografía entre los últimos espacios intercostales del lado izquierdo de la cavidad abdominal.

Tratamiento del desplazamiento de abomaso

Los objetivos del tratamiento del desplazamiento de abomaso son: (1) devolver el abomaso a su posición original o aproximada, (2) crear una ligación permanente en esta posición, (3) corregir el balance electrolítico del animal y la deshidratación, y (4) proveer tratamiento para enfermedades asociadas. El método quirúrgico parece ser la metodología más benéfica. En la técnica de cirugía cerrada el animal es colocado en decúbito dorsal, y el abomaso identificado por auscultación y percusión. Las suturas son colocadas a través de la pared abdominal con agujas curvas en "C". Ninguna de las técnicas permite la identificación exacta del local de fijación del abomaso, y existe la posibilidad de escape de líquido abomasal en el abdomen. Todos los animales con desplazamiento de abomaso o vólvulo presentan algún déficit electrolítico. Potasio y calcio son importantes para la manutención de la función muscular y deben ser mantenidos en niveles normales. Se puede prever que algún grado de hipocloremia y de alcalosis metabólica va a estar presente. La composición del fluido administrado puede ser ajustada de acuerdo al perfil bioquímico. Soluciones isotónicas salinas y Ringer son comúnmente utilizadas y funcionan muy bien. El volumen de líquido a ser administrado va a depender del grado de deshidratación del animal. La hidratación oral puede ser utilizada después del procedimiento quirúrgico, pero no sustituye la administración endovenosa cuando el animal presenta un grado de deshidratación igual o mayor de 8%. Combinaciones de NaCl y KCl pueden ofrecerse en líquidos por vía oral de forma libre. La utilización de antimicrobiano queda a criterio del médico veterinario, que debe tener en cuenta el tiempo del procedimiento, la asepsia del tratamiento quirúrgico y la manipulación realizada en el procedimiento. La técnica de acupuntura también puede ser utilizada en la corrección del desplazamiento de abomaso para la izquierda. La metodología de electroacupuntura mostró ser capaz de solucionar diez de doce casos de desplazamiento de abomaso, por lo cual se considera una técnica segura, barata y práctica para la corrección de esta patología en bovinos lecheros (Kwang-ho, 2003).

Control del desplazamiento de abomaso

Como se trata de un trastorno multifactorial, la prevención requiere ser hecha a través de la identificación, cuando es posible, de los factores predisponentes. El factor principal a ser considerado es el manejo nutricional del rebaño. Hay que evitar animales obesos en el estadio final de gestación y garantizar un manejo efectivo del comedero en ese período. Deben

ser evitados los animales con balance energético negativo y proporcionárseles dieta adecuada. Es necesario garantizar a los animales una fuente de fibra efectiva para que el rumen pueda estar siempre lleno, tornándose, por tanto, una barrera física para el desplazamiento de abomaso. La dieta en el período final de gestación ha de contener mínimo 17% de fibra bruta, evitando también una acidosis ruminal por el incremento en la ingestión de granos en ese período. Las dietas de transición deben ser adecuadas, reduciendo la probabilidad de indigestión. Todas las enfermedades que ocurren en el período posparto deben ser inmediatamente solucionadas (metritis, mastitis, retención de placenta, cetosis). Cualquier factor que esté llevando a problemas de hipocalcemia precisa ser corregido.

Diabetes mellitus

El nombre de diabetes fue dado originalmente por los griegos y significa "pasar a través de un sifón", en referencia al síntoma de poliuria. Atribuían al páncreas funciones de soporte, según se desprende del nombre que le dieron al órgano (*pan*: todo, *kreas*: carne). En el **Cuadro 5.1** se presenta un resumen de los hechos históricos relacionados al páncreas endocrino.

Cuadro 5.1. Principales eventos históricos relacionados al páncreas endocrino.

Siglo I	La diabetes es descrita por Areteu, creyendo que el problema radicaba en los riñones. Los chinos la llamaron "enfermedad de la sed", y los hindúes, "orina de miel". Charaka y Susruta, en la India, describen aspectos de la enfermedad, como su carácter hereditario y su relación con la obesidad.
1650	Sylvius y De Graaf reconocen la función digestiva del páncreas. Sin embargo, inicialmente, no le dan importancia fisiológica.
1682	Bruner verifica que la retirada del páncreas en perros provoca poliuria y polidipsia, pero no encuentra relación entre los dos hechos.
1774	Cullen propone el nombre "diabetes mellitus" para diferenciarla de la diabetes insípida.
1788	Cawley sugiere la relación del páncreas con la diabetes.
1815	Chevreul identifica a la glucosa como el azúcar en la orina de diabéticos.
1836	Ambrosiani descubre que la glucosa sanguínea se encuentra elevada en los pacientes diabéticos.
1841	Trommer desarrolla un método rápido de análisis de glucosa en la sangre.
1848	Fehling desarrolla otro método rápido de análisis de glucosa en la sangre.
1851	Peters encuentra acetona en la orina de diabéticos.
1862	Pavy establece la relación entre hiperglucemia y glucosuria.
1883	Stadelhman identifica la presencia de ácido beta-hidroxibutírico en la sangre de diabéticos, lo que permite a Naunyn establecer una explicación para el cuadro de acidosis encontrado en la diabetes.

1869	Von Mering y Minkowski demuestran que la pancreatectomía provoca diabetes en el perro.
1869	Paul Langerhans describe los islotes pancreáticos, aunque sin sugerir su función.
1889	Diamare sugiere que los islotes pancreáticos están relacionados con el metabolismo de los glúcidos.
1893	Laquesse propone para los islotes pancreáticos el nombre de "islotes de Langerhans", postulando que ellos producían alguna secreción interna.
1900 a 1920	Diversos grupos prepararon extractos pancreáticos, que obtuvieron éxito en la reducción de la glucemia y la glucosuria de perros en los que fue inducida diabetes por pancreatectomía. Sin embargo, los innumerables efectos colaterales como sepsis, fiebre, abscesos e intenso dolor debido a impurezas, reacciones tóxicas y proteasas presentes en los extractos, inviabilizaron el uso de esos extractos en pacientes humanos.
1909	Meyer llama a una supuesta hormona del páncreas "insulina", por ser producto de los islotes (del latín: *insula* = isla).
1921	Paulesco demuestra el efecto hipoglucemiante de extractos de páncreas, sugiriendo la existencia de una hormona pancreática, aunque esta no se hubiera identificado.
1921	Banting y sus colaboradores Best y MacLeod obtienen los primeros resultados del uso de extracto de páncreas en perros diabéticos.
1922	Banting y Collip consiguen la purificación del extracto pancreático y obtienen el primer tratamiento exitoso en un niño de 14 años.
1923	Banting y McLeod reciben el Premio Nobel de Fisiología como descubridores de la insulina, aunque ese descubrimiento sea atribuido a Paulesco. La academia sueca esclareció que el premio fue otorgado por la utilización práctica de los extractos de páncreas en el tratamiento de la diabetes mellitus. Banting dividió su parte del premio con Best y McLeod hizo lo propio con Collip.
1923	Murlin descubre el glucagón.
1924	Kimball y Murlin proponen la existencia de un factor glucogenolítico hiperglucemiante en el páncreas al cual denominaron "glucagón".
1949	Gracias a los estudios de Burger y Kramer, fue reconocida la categoría de hormona peptídica al glucagón y su producción por las células α del páncreas.
1965	La síntesis química de la insulina es obtenida en la República Popular China.

Tipos de diabetes mellitus

Bajo el nombre de diabetes mellitus (DM) se agrupan una serie de trastornos metabólicos caracterizados por hiperglucemia y glucosuria. La diabetes mellitus ha sido observada en casi todos los animales de laboratorio, así como en caballos, vacas, ovejas y cerdos, pero la incidencia es mayor en perros y gatos. Se estima una prevalencia de un caso en cada sesenta perros y cada doscientos cincuenta gatos. La prevalencia en esos animales viene creciendo año a año, sobre todo en los gatos, probablemente a consecuencia de los sistemas de alimentación, que utilizan glúcidos en animales carnívoros, desafiando al páncreas a producir más insulina.

Se reconocen al menos dos tipos de diabetes mellitus en perros y gatos, diferenciados por el tipo de respuesta a la insulina ante una administración de glucosa: diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID), equivalente a la diabetes mellitus tipo I o juvenil de los humanos. En este tipo de diabetes se observan bajos niveles de insulina sanguínea (menor que 36 pmol/L), con falta de respuesta de insulina a la administración de glucosa. En animales esta parece ser la forma más común, observada en perros viejos, mayores de 7 años, siendo las hembras obesas las más susceptibles (aproximadamente el doble de los casos) de presentar el problema. En los gatos es más común en machos viejos (mayores de 9 años) y castrados. La pérdida de función de las células beta-pancreáticas es irreversible y los animales con DMID necesitan de terapia insulínica para sobrevivir. Prácticamente todos los perros y la mayoría de los gatos están en ese estadio de diabetes al momento del diagnóstico.

El segundo tipo es la diabetes mellitus no insulino-dependiente (DMNID), equivalente a la diabetes mellitus tipo II o adulta de los humanos, en que son observados niveles de insulina normales (36 a 143 pmol/L), o incluso superiores al valor de referencia, aunque sin respuesta de insulina a la administración de glucosa. Alrededor del 30 % de los casos de diabetes mellitus felina corresponde a esta forma. Los animales con DMNID pueden ser tratados con dietas adecuadas o drogas hipoglucemiantes orales que estimulan las células beta-pancreáticas. Sin embargo, estos animales deben ser mantenidos en observación, por ser probable que la DMNID (deficiencia relativa de insulina) preceda a la DMID (deficiencia absoluta de insulina). En la DMNID ocurre resistencia periférica a la insulina asociada a veces a la disfunción de las células β. En humanos se cree que estos defectos sean de origen genético y son evidentes por hasta más de una década antes del inicio de la enfermedad clínica. Factores como obesidad pueden acentuar el problema. La resistencia hepática a la insulina es potencialmente inducida por aumento en las concentraciones séricas de ácidos grasos libres en la circulación portal, resultando en exceso de producción de glucosa hepática e hiperglucemia posprandial persistente. La resistencia muscular a la insulina lleva a disminución de la captación muscular de glucosa después de las refecciones. Muchas alteraciones en los receptores a la insulina y en las vías de señalización posrreceptor contribuyen para la resistencia a la hormona. Además, la secreción de insulina se reduce, lo cual es uno de los principales puntos de la patogénesis de intolerancia a glucosa en la DMNID. La terapia con insulina puede ser necesaria frente a severa resistencia a esta hormona y disfunción de las células β. Algunos perros y gatos obesos son identificados con resistencia a la insulina asociada a reducida secreción de la hormona en forma semejante a la DM tipo II humana. Personas con este tipo de trastorno son adultos mayores y obesos, motivo por el cual esta presentación también es reconocida como diabetes senil, aunque dicha nomenclatura ha sido abandonada, una vez que cerca del 30 % de los nuevos casos en humanos son en niños y jóvenes adultos.

Etiopatogenia de la diabetes mellitus

Prácticamente todos los perros presentan DMID al momento del diagnóstico. En caninos este tipo de DM se caracteriza por hipoinsulinemia acompañada con falta de respuesta de insulina luego de administrarse un secretagogo como la glucosa, total falla en el control glucémico salvo con dietas apropiadas y agentes hipoglucemiantes orales, y total necesidad de insulina para el mantenimiento de la glucemia. Diversos factores se conjugan en la etiopatogenia de la DM en perros, entre ellos, la predisposición genética ha sido sugerida por asociaciones familiares y análisis de pedigrí. Algunas razas caninas tienen más predisposición a sufrir el trastorno (Samoyedo, Lhasa Apso, Poodle, Schnauzer miniatura, Pinscher) que otras (Pastor Alemán, Pastor Inglés, Pastor Australiano, Pastor Collie, Golden Retriever, Cocker Spaniel, Labrador, Rottweiler). Otros factores potenciales son la insulitis inmunomediada, pancreatitis, obesidad, antagonismos hormonales (hiperadrenocorticismo, diestro, acromegalia), fármacos

(glucocorticoides, estreptozotocina), infecciones, enfermedades intercurrentes (insuficiencia renal, enfermedad cardiaca), hiperlipidemia y amiloidosis de los islotes. El descubrimiento reciente de que cerca del 50% de los perros diabéticos presentan anticuerpos contra células β soporta la existencia de autoinmunidad humoral.

Las lesiones patológicas más comunes en perros con DM son reducción en el número y tamaño de los islotes de Langerhans, número reducido de células β y degeneración hidrópica de los islotes. También, ausencia absoluta congénita de células β y aplasia o hipoplasia de islotes pancreáticos ya fueron descritas en perros con DM. Alteraciones menos severas en las células β y los islotes pueden predisponer al animal adulto a DM frente a la exposición a factores ambientales de riesgo; estos factores pueden inducir a degeneración de células β secundariamente a la resistencia crónica a insulina o causar liberación de proteínas celulares provenientes de células β que se vuelven blancos de la destrucción inmunomediada de los islotes de Langerhans. La infiltración linfocitaria es un hallazgo raro en perros, diferente de lo que ocurre en la DM tipo I de humanos y bóvidos. Es probable que ocurran infiltrados leucocitarios en los islotes pancreáticos al inicio del proceso autoinmune, y que estos no estén más presentes al momento de la muerte de la mayoría de los perros diabéticos. Después de episodios de pancreatitis, por ejemplo, cerca del 30 % de los casos presentan destrucción de islotes, los cuales son reemplazados por tejido fibroso, en otros casos ocurre degeneración de islotes o no se halla ningún islote.

La intolerancia a glúcidos inducida por obesidad y la presencia de amiloide en islotes ya fueron encontradas en algunos perros diabéticos, aunque el reconocimiento clínico de DMNID sea bastante raro en caninos. Un pequeño porcentaje de perros diabéticos presenta aumento de los niveles de péptido C en pruebas de liberación de insulina, lo cual sugiere la presencia de algunas células β funcionales. Estos animales necesitan de terapia con insulina para disminuir la hiperglucemia.

Recientemente fue propuesta la clasificación de la DM canina en diabetes insulino-deficiente (DID) y diabetes insulino–resistente (DIR). La DID primaria sería caracterizada por pérdida progresiva de células β pancreáticas causada por enfermedades como hipoplasia congénita de células β, pérdida de células β secundaria a enfermedad pancreática exocrina, destrucción inmunomediada o idiopática de células β. La DIR primaria resultaría básicamente de cuatro situaciones: (1) antagonismos a la función de la insulina por otras hormonas (diestro/diabetes gestacional); (2) secundaria a otros disturbios endocrinos (hiperadrenocorticismo y acromegalia); (3) iatrogénica (uso de glucocorticoides y progestinas sintéticas); o (4) intolerancia a glucosa asociada a obesidad, aunque no como causa primaria de DM en perros. La DIR puede ocasionar un estado diabético reversible, extremadamente raro en perros. El reconocimiento precoz de la resistencia a insulina en estos casos, y/o el tratamiento adecuado de la endocrinopatía concomitante en los estadios iniciales, puede resolver la DIR, retornando el paciente a un estado euglucémico sin el uso continuo de insulina. En la DIR, a pesar de haber adecuada masa de células β funcionales, estas no consiguen secretar insulina suficiente para mantener la euglucemia en presencia de un antagonismo a los efectos de la insulina. Fallas en corregir rápido estos antagonismos resultan en pérdida de células β y eventual desarrollo de DMID secundaria. Una hiperglucemia crónica (glucosa mayor que 250 mg/dL) por cerca de dos semanas es suficiente para causar pérdida de células β y DM permanente, debido a resistencia periférica a la insulina y supresión de la secreción de esta hormona (glucotoxicidad). La hiperglucemia persistente después de pancreatitis es otra forma de DM secundaria. La activación de enzimas pancreáticas dentro de los acinos y ductos pancreáticos inicia la pancreatitis y el envolvimiento de los islotes puede ocurrir por extensión de la necrosis e inflamación de los tejidos vecinos.

La gran mayoría de los perros recientemente diagnosticados con DM presentan bajas concentraciones de insulina (menor que 12 μU/mL), muchas veces indetectables. Concentraciones mayores de 18 μU/mL sugieren la existencia de células β funcionales y la posibilidad de DM secundaria con eventual reversión del cuadro a un estado no dependiente de insulina si los antagonismos hormonales presentes son eliminados; aun así, la terapia con insulina se recomienda en estas situaciones para corregir la hiperglucemia y reducir el estrés a las células β mientras se resuelve el antagonismo.

Aunque la obesidad cause resistencia a la insulina en caninos, no existen trabajos bien documentados demostrando que la DM tiene relación significante en esta especie, diferente de lo observado en gatos y

humanos. Ningún trabajo epidemiológico fue publicado evaluando la relación entre obesidad y DM en perros desde 1960, cuando fue observado por Krook y colaboradores que la prevalencia de DM era mayor en perros obesos. El estudio clásico de Mattheeuws y colaboradores (1984), que correlacionó diabetes con obesidad, utilizó hembras caninas no castradas, sin poderse descartar la posibilidad de que en estas pacientes pudo haber ocurrido resistencia a insulina mediada por el diestro. Los efectos de la obesidad son particularmente pronunciados cuando son resultado de una dieta rica en grasa saturada. Perros alimentados con dieta rica en grasa desarrollan resistencia insulínica no compensada por aumento en la secreción de insulina, resultando en intolerancia a la glucosa más severa, además de sufrir una reducción en el transporte de insulina para el SNC. Un estudio epidemiológico realizado en Porto Alegre (Brasil) evidenció que 69 % de los propietarios de perros diabéticos consideraban a sus mascotas con sobrepeso u obesas antes del diagnóstico de DM. El mismo estudio documentó que 50 % de los pacientes con DM recibían comida casera más ración en cada refección, y que otros 28 % de ellos recibían solo comida casera como dieta al momento del diagnóstico. En esta población de pacientes diabéticos estudiada, 78 % de ellos recibían golosinas como panes, galletas, dulces y chocolates fuera de los horarios de las refecciones, lo que corrobora la hipótesis de obesidad y desequilibrio nutricional como factores de riesgo para el desarrollo de la DM canina (Pöppl y Gonzalez, 2005). El mismo comportamiento fue observado en un estudio de control realizado en Suecia, en el cual se observó mayor ocurrencia de obesidad y alimentación desequilibrada (comida casera sola o asociada a ración y golosinas) en los pacientes diabéticos comparados con los controles (Kaiyala et al., 2000). Además, evidencias en otros modelos muestran los efectos deletéreos de la obesidad sobre la sensibilidad a la insulina y predisposición a la DM.

Adicional a diversas adipocitocinas liberadas por los adipocitos, los ácidos grasos libres (AGL) reducen la captación de glucosa muscular y la secreción de insulina, al tiempo que aumenta la producción hepática de glucosa. Los AGL también están asociados a la reducida fosforilación de mensajeros intracelulares, resultando en menor respuesta a la insulina. La reducción en la secreción de adiponectina en la obesidad (adipocitocina con efectos proinsulina) es otro factor importante en la interacción obesidad-homeostasis de la glucosa.

La DM en perras es con frecuencia asociada a la fase del ciclo estral donde predomina la progesterona (diestro), y se asemeja a la DM gestacional (DMG) en humanos. Cerca de 70 % de las perras que desarrollan DM se encuentran en el diestro cuando comienzan los signos clínicos de la enfermedad. En el Reino Unido la reducción en el uso de progestágenos sintéticos y la práctica de esterilización viene reduciendo la DM derivada del diestro en perras. En los caninos la progesterona, así como los progestágenos sintéticos, pueden aumentar la liberación de GH por el tejido mamario, siendo un importante factor en la resistencia a la insulina, y también asociado a tumores mamarios y al complejo hiperplasia endometrial cística-piómetra. Puede ocurrir reducción en la sensibilidad a la insulina en perras preñadas sanas entre los días 30 a 35 de la gestación, siendo más grave al final de la gestación. El diestro en la perra dura aproximadamente el mismo tiempo de una gestación (cerca de nueve semanas) y se considera el perfil hormonal del diestro y de las gestantes prácticamente idéntico. Perras con DM transitoria causado por diestro presentan grandes posibilidades de desarrollar DMID en la próxima fase progestágena del ciclo estral. Por este motivo se recomienda la castración después del diagnóstico de DM. Cerca de 5 % de las pacientes con diagnóstico inicial de DM durante el diestro pueden revertir a un estado euglucémico después de la castración. La ovariectomía promueve aumento significativo en la respuesta insulínica frente a la administración de glucosa, siendo posible incluso observar hipertrofia de islotes de Langerhans y mayor desgranulación de las células β. Si la DM persiste después del diestro se debe reclasificar el trastorno como DMID y no más DMG.

El aumento en la concentración sérica de progesterona durante el diestro puede causar DM en perras por promover un efecto antagónico a la insulina, directamente por reducir la unión de insulina y el transporte de glucosa en los tejidos blanco, y secundariamente debido al promover la liberación de GH por la glándula mamaria. La GH ejerce efecto antagónico a la insulina por reducir la concentración de receptores a la insulina, reduciendo la captación de glucosa. No obstante, se considera la reducción en la concentración de receptores de insulina en la membrana celular de las células blanco como una *down-regulation* derivada de la hiperinsulinemia promovida por la resistencia insulínica generada por la GH. Los efectos lipolíticos de la GH también son antagónicos a los efectos de la

insulina. Las hormonas FSH y LH ya fueron asociadas a la resistencia tecidual a los efectos hipoglucemiantes, lipogénicos y antilipolíticos de la insulina en caninos. El reconocimiento de la contrarregulación de la GH sobre los efectos de la insulina es de casi siete décadas, aunque solo hace poco tiempo se conocieron los mecanismos moleculares involucrados en la resistencia insulínica promovida por la GH. Evidencias acumuladas sugieren que la GH modula la sensibilidad a la insulina mediante múltiples mecanismos. Esto ocurre debido a que ambas vías de señalización intracelular de la GH y de su principal efector, el factor de crecimiento semejante a insulina I (IGF-I), convergen con las vías de señalización intracelular de la insulina. Recién fue verificada menor fosforilación del receptor de insulina en perras durante el estro y el diestro, así como menor afinidad de los receptores de insulina durante estas fases del ciclo estral. Este ambiente hormonal del estro y el diestro puede modular negativamente la sensibilidad a la insulina y predisponer al desarrollo de DM, especialmente cuando otros factores de riesgo están presentes, como autoinmunidad contra células β, obesidad, alimentación desequilibrada o uso de drogas diabetogénicas.

Implicaciones metabólicas de la diabetes mellitus

Los principales efectos metabólicos que ocurren en la DM se pueden resumir en los siguientes puntos: (1) disminución/inhibición del ingreso y de la utilización de glucosa por los tejidos periféricos, resultando en hiperglucemia; (2) aumento de la degradación de proteínas musculares y de lípidos en el tejido adiposo, con consecuente aumento en la concentración sanguínea de aminoácidos y ácidos grasos libres; (3) incremento en la síntesis hepática de urea, que lleva a azotemia, como resultado del mayor catabolismo de los aminoácidos; (4) aumento de la gluconeogénesis, por incremento de la actividad de las enzimas piruvato carboxilasa, fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, fructosa-1,6-difosfatasa y glucosa-6-fosfatasa, aumentando aún más la hiperglucemia; (5) inhibición de la lipogénesis; (6) mayor producción de acetil-CoA con el consecuente incremento en la producción y concentración sanguínea de cuerpos cetónicos y colesterol; (7) cetoacidosis.

La falta absoluta o relativa de insulina en la diabetes mellitus es la causa primaria de la hiperglucemia, debido al bloqueo de la entrada y la utilización de glucosa en las células dependientes de insulina para el transporte de glucosa. En el caso de la DMID (**Figura 5.20**), la disminución en la utilización de glucosa por parte de las células provoca aumento del catabolismo de los lípidos de reserva como fuente de energía, siendo observada una hiperlipidemia. Además, ocurre aumento de la glucogenólisis y la gluconeogénesis, lo que exacerba la hiperglucemia. La movilización de triglicéridos incrementa progresivamente en la medida en que la insulina se vuelve más deficiente, debido al aumento de actividad de la lipasa hormonosensible. La elevada liberación de ácidos grasos, como consecuencia de la lipólisis, y su posterior beta-oxidación en el hígado, lleva al aumento de acetil-CoA, agravado por dos factores: (a) acción inhibitoria de los ácidos grasos sobre la citrato sintetasa, primera enzima del ciclo de Krebs, la cual es fundamental para la completa oxidación del acetil-CoA; (b) poca disponibilidad de oxalacetato. Así, el acetil-CoA debe seguir otras rutas metabólicas, como son, síntesis de colesterol y/o de cuerpos cetónicos. El acúmulo de acetil-CoA provoca aumento en la formación de cuerpos cetónicos (cetosis). Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, betahidroxibutirato y acetona) se acumulan en la sangre, provocando acidosis de tipo metabólica. Estos cuerpos cetónicos, en especial el acetoacetato y la acetona, son excretados por la orina y los pulmones, dando un olor característico a la orina y al hálito del animal diabético, ya que la acetona es volátil a la temperatura corporal.

La exagerada movilización de grasa periférica con liberación de ácidos grasos en circulación ocasiona la acumulación de grasa en el hígado, produciendo hepatomegalia y lesión hepática (lipidosis), principalmente en gatos. La hiperlipidemia provocada por el aumento de los triglicéridos se exacerba por su imposibilidad de entrar en la célula adiposa. Ya que los ácidos grasos no son precursores directos para la gluconeogénesis, se utilizan las proteínas de reserva (músculo) como precursores para esta ruta. Así, simultáneamente con el aumento del catabolismo de grasa, ocurre mayor catabolismo proteico. Como consecuencia, se presenta pérdida de peso y aumento de urea en la sangre y la orina. La concentración relativamente elevada de glucagón, cortisol y GH en la DM contribuye al aumento del catabolismo proteico y la gluconeogénesis.

En el caso de la DMNID (**Figura 5.21**) el conjunto de efectos metabólicos es menos dramático. En común con la DMID, ocurre una hiperglucemia, aunque sin las

concomitantes cetosis y azotemia. Esto ocurre porque la relación insulina/glucagón no está tan disminuida y no hay, por tanto, el acentuado estímulo a la lipólisis visto en la DMID. Tampoco hay catabolismo proteico para gluconeogénesis. La hiperlipidemia asociada a la DMNID es básicamente derivada del aumento de triglicéridos, sin aumento de ácidos grasos libres.

En casos crónicos de DM canina es frecuente apreciar la formación de cataratas, debido a la acumulación de sorbitol y fructosa en el cristalino, dada la alta concentración de glucosa intracelular y un suministro adecuado de NADPH que hace que la enzima aldosa reductasa, encontrada en el cristalino y la retina, reduzca la glucosa a sorbitol. La fructosa y el sorbitol (agentes hidrofílicos) acumulados en estas células promueven fuertes eventos osmóticos y subsecuente edema celular por la retención de agua, con ruptura de las fibras del cristalino. El proceso es irreversible y no ocurre en gatos, quizá por diferencias en el metabolismo de la glucosa en el cristalino, ya que en esta especie la aldosa reductasa no es tan activa como en caninos.

Otro efecto causado por la diabetes mellitus compromete el proceso de cicatrización. La hiperglucemia aumenta el gradiente de concentración necesario para desviar la glucosa del plasma a los tejidos lesionados y frecuentemente mal vascularizados. Las células en la lesión pueden metabolizar la glucosa en lactato por glucólisis anaeróbica, ruta que garantiza energía a los tejidos con bajo suministro de oxígeno. La falta de glucosa en el tejido promueve grandes pérdidas de proteína tecidual, catabolizada para suministrar precursores gluconeogénicos, inhibiendo la cicatrización.

Signos clínicos de la diabetes mellitus

El animal diabético presenta una edad promedio de 7-9 años al momento del diagnóstico. En general, hay historia de polidipsia, poliuria, polifagia y pérdida de peso. Clínicamente se observa debilidad, hiperglucemia, glucosuria y, en casos avanzados, acetonemia y acetonuria, con hálito cetónico. Los gatos presentan postura plantígrada (apoyan las patas traseras en el jarrete) y otros signos neurológicos, como debilidad del tren posterior, ataxia y dificultad para saltar o interactuar con su dueño. Una anamnesis minuciosa debe siempre ser realizada buscando enfermedades concomitantes que están presentes en la mayoría de los casos de DM. En muchos perros el antagonismo a los efectos de la insulina causada por otras enfermedades, como pancreatitis, infecciones, insuficiencia cardíaca congestiva, hiperadrenocorticismo o incluso un estro reciente, es el evento que desencadena el inicio del disturbio. La identificación y el tratamiento de estos trastornos son fundamentales para el éxito de manutención del paciente diabético. Otras informaciones, referentes a tratamientos anteriores con drogas diabetogénicas, como glucocorticoides y progestágenos, deben ser cuestionadas buscando posibles factores involucrados. Se debe cuestionar también el tipo de alimentación suministrado al animal y la cantidad de golosinas que recibe. Se sabe que dietas ricas en glúcidos predisponen a la obesidad, así como dietas ricas en grasa, que también pueden causar pancreatitis, factores

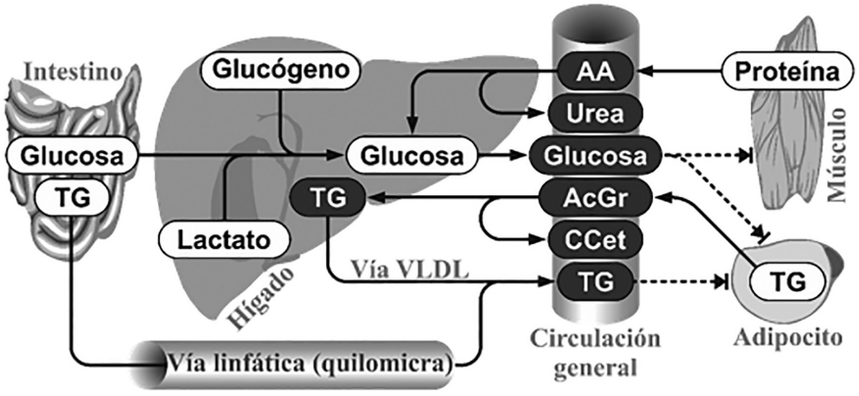


Figura 5.20. Efectos metabólicos de la diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID, tipo I)

Las flechas continuas representan las rutas o flujos de metabolitos, mientras que las discontinuas indican el bloqueo de estas rutas o flujos. Los nombres de los metabolitos cuyas concentraciones son elevadas en relación con los valores de referencia se indican en fondo grisáceo oscuro. AA, aminoácidos; AcGr, ácidos grasos; CCet, cuerpos cetónicos; TG, triglicéridos.

íntimamente ligados a la DM en caninos. En perras, historia de celo reciente al diagnóstico (menos de dos meses) es un hallazgo común.

En la DM la glucemia está elevada por encima de su valor referencial, y cuando se alcanza el umbral renal (perros: 280 mg/dL, gatos: 320 mg/dL), la glucosa pasa a ser detectable en la orina (glucosuria). Cuando esto ocurre los túbulos renales no son capaces de reabsorber completamente la cantidad de glucosa filtrada en el nefrón. Es común en la diabetes no tratada observar niveles sanguíneos de glucosa del orden de 300 a 400 mg/dL en perros, con casos reportados de hasta 1.250 mg/dL. La pérdida de glucosa en la orina ejerce una acción osmótica, reteniendo agua en los túbulos renales y causando poliuria y deshidratación, con la consecuente polidipsia. Los niveles sanguíneos de triglicéridos, colesterol, ácidos grasos y lipoproteínas se elevan mucho, pudiendo llegar el colesterol a 700 mg/dL. La hiperlipidemia en la DM es causada por la movilización y degradación de triglicéridos y por la disminución en la lipólisis de los quilomicrones y las lipoproteínas (VLDL), esta última secundaria a una deficiencia de la enzima lipoproteína lipasa. En la DM cetoacidótica ocurre acumulación de cuerpos cetónicos derivados de la alta lipomovilización, lo que también puede ser causa del aumento de enzimas hepáticas (ALT, FA, GGT) por la deposición de grasa en el hígado. Los cuerpos cetónicos inducen cetoacidosis y pérdida de ácidos en la orina, provocando pérdida simultánea de Na^+ y K^+, una vez que los ácidos son eliminados como sales. La acidosis, la deshidratación grave y la pérdida de electrolitos son los responsables del coma y la muerte en la diabetes no tratada. La acidosis causada por los cuerpos cetónicos se exacerba debido a la drástica reducción del anión bicarbonato (HCO_3), dificultando el proceso compensatorio. Por otro lado, la utilización de los cuerpos cetónicos por los tejidos periféricos está disminuida, aumentando aún más su concentración en la sangre. Con la acidosis aumenta la concentración del protón H^+, el cual en exceso entra a las células, desplazando el K^+ intracelular al medio extracelular. Asociada a la salida de K^+ ocurre entrada de Na^+ en las células. Con el aumento de la deshidratación y de la acidosis la concentración plasmática de K^+ puede verse bastante aumentada (hipercalemia), pese a haber déficit global de potasio. No obstante, cuando una terapia de fluidos se aplica en esa situación se debe tener en cuenta que el K^+ extracelular en exceso puede retornar al interior de las células, provocando una hipocalemia. Por tanto, la terapia debe incluir K^+ aunque el cuadro muestre una hipercalemia.

En el urianálisis la presencia de glucosuria es signo indicativo de la existencia de DM. En ocasiones puede ser encontrada glucosuria aproximadamente una hora después de las refecciones, cuando son muy ricas en glúcidos. En perros diabéticos es rara la complicación renal crónica que se observa en los humanos. La presencia de cuerpos cetónicos en la orina (acetonuria) solo se observa en la diabetes avanzada y en el ayuno prolongado. En la DM leve o inicial la acetonuria no es frecuente. El pH de la orina no es útil para detectar casos de acidosis, pues varía solo en casos extremos.

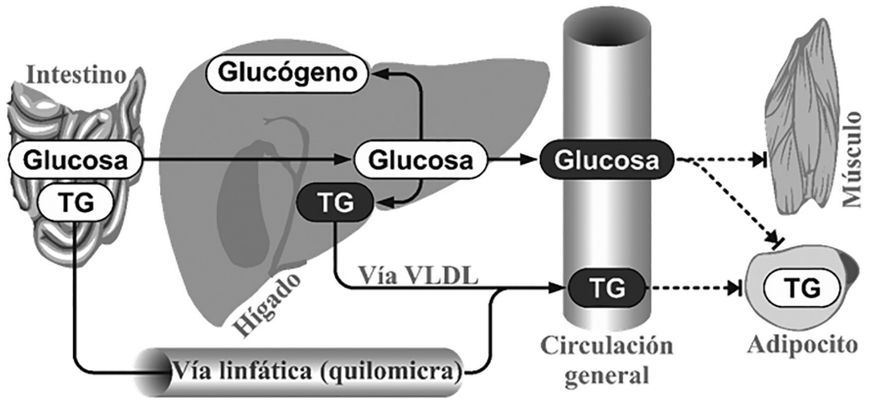


Figura 5.21. Efectos metabólicos de la diabetes mellitus no insulino-dependiente (DMNID, tipo II)

Las flechas continuas representan las rutas o flujos de metabolitos, mientras que las discontinuas indican el bloqueo de estas rutas o flujos. Los nombres de los metabolitos cuyas concentraciones son elevadas en relación con los valores de referencia se señalan en fondo grisáceo oscuro. TG, triglicéridos.

A pesar de la poliuria la densidad urinaria puede estar por encima de 1,025 debido a la presencia de glucosa y haber proteinuria y bacteriuria por la predisposición a complicaciones infecciosas. La **Tabla 5.4** muestra las principales complicaciones derivadas de la diabetes mellitus y sus manifestaciones clínicas.

Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus canina

Las complicaciones resultantes de la DM (catarata) o del tratamiento (hipoglucemia) son bastante comunes en perros, siendo la ceguera derivada de uveítis anterior debido a la formación de cataratas, la más común. Pancreatitis crónica, infecciones recurrentes en el tracto urinario, tracto respiratorio y piel, hipoglucemia y cetoacidosis, también son frecuentemente observadas. Las devastadoras complicaciones crónicas de la DM que se ven en humanos (nefropatía, enfermedad coronaria, vasculopatía) llevan décadas para desarrollarse, no siendo comunes en perros diabéticos. Los mecanismos patogénicos involucrados en estas complicaciones crónicas se dividen básicamente en tres categorías: (1) metabolismo anormal del sorbitol debido a hiperglucemia y glucosilación excesiva de proteínas circulantes y proteínas unidas a membrana; (2) mecanismos vasculares, como anormalidades endoteliales y en las células subyacentes, como los pericitos de la retina y células mesangiales del glomérulo, así como hiperfiltración e hipertensión renal; y (3) otros mecanismos como perjuicios en la función plaquetaria y en factores de crecimiento, así como influencias genéticas.

Catarata

Entre las enfermedades metabólicas y sistémicas, la DM es la que más frecuentemente lleva a la formación de catarata. Con o sin terapia insulínica la formación de catarata diabética es rápida y bilateral en el perro, iniciando con el desequilibrio metabólico. Se considera la complicación crónica más común en perros diabéticos, habiendo sido identificada en 66 % de los casos, con mayor incidencia en las razas Poodle y Schnauzer. Cerca del 80 % de los perros desarrollan cataratas hasta el decimosexto mes de haberse hecho el diagnóstico de DM, por lo tanto la rapidez en el surgimiento de cataratas está directamente relacionada al grado de hiperglucemia. El metabolismo normal del cristalino se mantiene por transporte facilitado de glucosa y otros metabolitos, que penetran libremente en el lente a partir del humor acuoso. La concentración normal de glucosa en el cristalino es cercana al 10 % de la concentración en el humor acuoso. En el cristalino la glucosa se convierte de forma anaeróbica en ácido láctico, liberando ATP. Como este sistema es fácilmente saturado por altas concentraciones de glucosa, ocurre su paso a sorbitol. La alta concentración de glucosa en el cristalino aumenta la actividad de la enzima aldosa reductasa, que reduce la glucosa a sorbitol, el cual se convierte en fructosa por la enzima sorbitol deshidrogenasa. Sorbitol y fructosa no son libremente permeables en la membrana celular, y son potentes agentes hidrofílicos, con lo cual ocurre gran aporte de agua hacia adentro del cristalino, causando hinchazón y rompimiento de las fibras de los lentes y formando la catarata típica de la DM. La formación de cataratas es un proceso irreversible y puede ocurrir de forma muy rápida. Clínicamente los perros pueden evolucionar de visión normal a ceguera en un período de días, meses o años. Un buen control glucémico y de fluctuaciones mínimas de glucemia ayudan a evitar o atrasar la ocurrencia de cataratas.

Uveítis inducida por la catarata

Durante la embriogénesis los lentes se forman dentro de su propia cápsula, y sus proteínas estructurales no se exponen al sistema inmune, con lo cual no hay tolerancia inmunológica a las proteínas del cristalino. Durante la formación de la catarata y posterior reabsorción las proteínas de los lentes se exponen al sistema inmune local ocular, resultando en inflamación y uveítis. El tratamiento de esta alteración consiste en disminuir la reacción inflamatoria y prevenir la ocurrencia de daños intraoculares. Los corticoides oftálmicos son las drogas comúnmente utilizadas en el tratamiento de inflamaciones oculares; sin embargo, estas preparaciones pueden ser absorbidas de forma sistémica y causar antagonismo a la insulina, lo cual puede interferir en el control glucémico, especialmente en perros toy y miniaturas. Como alternativa menos potente, aunque sin interferencias en el control glucémico, se pueden utilizar antiinflamatorios oftálmicos no esteroidales o ciclosporina; no obstante, en estos casos la remoción de la catarata se torna una solución más eficaz a largo plazo, aunque no sea posible la recuperación de la visión. La resolución de la uveítis y la prevención de la formación de glaucoma presentan un gran potencial de confort al paciente por resolver la causa del dolor.

Tabla 5.4 Complicaciones de la diabetes mellitus y sus manifestaciones clínicas

Complicación	Manifestación clínica
Cetoacidosis	Vómito, depresión, colapso, taquipnea
Catarata	Ceguera
Retinopatía	Lesiones oftalmoscópicas
Neuropatía	Debilidad
Pancreatitis	Vómito, dolor abdominal
Lipidosis hepática	Hepatomegalia
Glomerulonefropatía	Insuficiencia renal oligúrica
Infecciones bacterianas urinarias	Cistitis, pielonefritis
Infecciones bacterianas respiratorias	Neumonía (tos, disnea, fiebre)
Infecciones bacterianas cutáneas	Piodermatitis
Insuficiencia pancreática exocrina	Diarrea, pérdida de peso

Retinopatía diabética

La retinopatía diabética es una complicación clínica bastante rara en perros. Cuando ocurre se observan microaneurismas, hemorragias, varicosis y *shunts* capilares al examen oftalmoscópico de la retina. También es posible observar la presencia de pericitos fantasmas y capilares acelulares. Como el desarrollo rápido de la catarata impide la evaluación de la retina en perros diabéticos, se recomienda un criterioso examen de fondo de ojo en casos con diagnóstico reciente para verificar la presencia de una retina saludable. A pesar de que estudios han demostrado que la aspirina y la aminoguanidina actúan como inhibidores farmacológicos de la retinopatía por un período de cinco años en perros diabéticos, un adecuado control glucémico es el único tratamiento recomendable para inhibir o prevenir la progresión de la retinopatía diabética.

Neuropatía diabética

El reconocimiento de la neuropatía diabética en perros no es tan frecuente como en gatos, y los signos clínicos consistentes con esta alteración son más comúnmente reconocidos en perros con DM por un largo período (cinco años o más). Los signos clínicos observados son debilidad, andar agachado, marcha anormal, atrofia muscular, depresión de los reflejos límbicos (de miembros) y en los tests de reacción postural. La neuropatía diabética en el perro es primariamente una polineuropatía distal, caracterizada por desmielinización segmentar, y remielinización y degeneración axonal con regeneración, aunque por mecanismos no totalmente conocidos. No hay tratamiento para la neuropatía diabética, pero el adecuado control glucémico puede mejorar los signos clínicos. En los gatos es frecuente observar posición plantígrada.

Nefropatía diabética

No es común la nefropatía diabética en perros, y las anormalidades histológicas encontradas incluyen glomerulonefropatía membranosa con fusión de los procesos podales, engrosamiento de membrana basal de glomérulos y túbulos, aumento en el material de la matriz mesangial, presencia de depósitos subendoteliales, fibrosis glomerular y glomeruloesclerosis. Las anormalidades iniciales pueden ser la hipertensión glomerular crónica y la hiperperfusión renal, derivadas de la hiperglucemia crónica. Así, el aumento en la presión glomerular resulta en depósito de proteínas en el mesangio. La expansión del mesangio invade el espacio subendotelial, reduciendo el lumen de los capilares glomerulares, lo que lleva a una menor tasa de filtración glomerular, conduciendo a glomeruloesclerosis e insuficiencia renal. Perros con más de dos años de enfermedad que tengan una glucemia poco controlada pueden sufrir esclerosis glomerular. La nefropatía diabética se presenta con alteraciones tipo proteinuria grave (albuminuria) debido a la disfunción glomerular, progresando de acuerdo al daño glomerular para ocurrencia de azotemia y uremia. En el ápice de desarrollo de la fibrosis glomerular ocurre insuficiencia renal oligúrica y anúrica. No hay tratamiento específico para la nefropatía diabética fuera del adecuado control glucémico, manejo médico conservativo de la insuficiencia renal y control de la hipertensión sistémica.

Miocardiopatía diabética

La miocardiopatía diabética es una entidad bien estudiada y frecuente en humanos, pero no hay reportes de miocardiopatía diabética en caninos. Trabajos demostraron en perros diabéticos inducidos por aloxano la disminución de los volúmenes diastólicos finales y de llenado ventricular, comparados al grupo control, así como mayor concentración de colágeno en estos corazones, rigidez miocárdica, aumento en la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y reducción del débito cardiaco. Algunas de estas alteraciones pueden ser controladas con insulinoterapia. Morfológicamente el corazón de estos pacientes presenta acumulación de material PAS positivo, probablemente glucoproteínas. Alteraciones celulares, incluyendo defectos en el transporte de calcio y en el metabolismo de ácidos grasos pueden llevar a hipertrofia de los miocitos y fibrosis del miocardio, lo cual causa inicialmente disfunción diastólica que puede evolucionar a disfunción sistólica.

Hipertensión sistémica/Aterosclerosis

En humanos diabéticos hay ocurrencia asociada de hipertensión que puede poner en riesgo la vida del paciente. En perros la hipertensión sistémica es un hallazgo común en obesos, con presión arterial sistólica mayor de 180 mmHg, así como observado en casi 50 % de los perros diabéticos. Se observa asociación entre la hipertensión, la duración de la diabetes y el aumento en la relación albúmina-creatinina en la orina, siendo que la presión diastólica y la presión sanguínea promedia suelen ser mayores en perros con mayor duración del trastorno. Posibles mecanismos involucrados en el desarrollo de hipertensión en perros diabéticos incluyen disturbios en el metabolismo de lípidos, que llevan a reducción en la complacencia vascular y la hiperfiltración glomerular generalizada. La aterosclerosis puede estar presente en pacientes con DM, representando un factor adicional en la etiopatogenia de la hipertensión sistémica, a pesar de que la especie canina presenta protección al desarrollo de aterosclerosis, la cual deriva de la HDL, principal lipoproteína en la sangre canina.

Diagnóstico de la diabetes mellitus

Deben estar presentes en el diagnóstico de la DM los signos típicos (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso), además de hiperglucemia persistente y glucosuria. Para confirmar la hiperglucemia persistente conviene medir la fructosamina o la hemoglobina glucosilada, proteínas glucosiladas de la sangre que rinden información de la glucemia en las últimas tres a seis semanas, respectivamente. La ultrasonografía abdominal representa una buena herramienta para verificar pancreatitis, adrenomegalia, piometritis en hembras, y alteraciones hepáticas y del tracto urinario (cistitis, pielonefritis). Debido al alto índice de pancreatitis en perros diabéticos, se debe realizar la medición de la actividad de las enzimas lipasa sérica o tripsina sérica inmunorreactiva. En perros diabéticos no complicados es común un hemograma sin alteraciones. Policitemia leve puede ocurrir en casos de deshidratación. La anemia no es un hallazgo relacionado directamente a DM. Aumento en la leucometría total puede ser causado por procesos infecciosos o inflamatorios. Desvío a la izquierda y presencia de neutrófilos degenerados o tóxicos soportan el envolvimiento de infección en la leucocitosis. En la bioquímica sanguínea la prevalencia y severidad de las alteraciones varían de acuerdo con la duración de la DM sin tratamiento y la ocurrencia de enfermedades intercurrentes, principalmente pancreatitis y lipidosis hepática. En perros con DM no complicada el panel bioquímico sería considerado normal excepto por la hiperglucemia y la hiperlipidemia. La hiperlipidemia es común en pacientes diabéticos no tratados. La DM descontrolada viene acompañada con aumento en las concentraciones de triglicéridos, colesterol, lipoproteínas y ácidos grasos libres debido a la deficiencia de insulina y la menor actividad de la lipoproteína lipasa (enzima responsable de retirar los triglicéridos de circulación). A pesar de haber hipercolesterolemia, esta es menos severa que la hipertrigliceridemia. La hiperlipidemia es un importante factor en la resistencia a la insulina. Aumentos de amilasa y lipasa también pueden estar presentes cuando hay pancreatitis aguda intercurrente. Una adecuada evaluación de la función hepática en pacientes diabéticos debe considerar pruebas para evaluar lesión en los hepatocitos (medición de actividad de las enzimas ALT y AST), capacidad de síntesis (albúmina y fibrinógeno), así como evaluar el sistema biliar (medición de las enzimas FA y GGT y bilirrubinemia). Las alteraciones más comunes son aumento en las actividades de ALT y FA junto con altos niveles de colesterol; los altos niveles de ALT, junto con reducidos niveles de urea, hipoalbuminemia y altos niveles de ácidos biliares, pueden indicar otra hepatopatía además de la lipidosis, alteración común

en pacientes diabéticos. La hiperbilirrubinemia es indicativo de obstrucción extrahepática, probablemente por pancreatitis. Valores muy elevados de actividad de FA pueden indicar hiperadrenocorticismo concomitante. Pacientes diabéticos presentan actividad de FA del orden de 500 U/L máximo, mientras que pacientes con hiperadrenocorticismo presentan actividad de FA superiores a 1.000 U/L. Creatinina y urea aparecen dentro de los valores de referencia en perros diabéticos bien controlados; sin embargo, valores discretamente elevados de urea pueden indicar catabolismo proteico elevado. El aumento de estos parámetros es indicativo de insuficiencia renal primaria o uremia prerrenal secundaria a deshidratación. La verificación de la densidad urinaria auxilia en la diferenciación entre uremia de origen prerrenal o renal. La medición de β-hidroxibutirato en sangre como indicador de cetoacidosis diabética también puede ser útil, pese a que la detección de cetonas en la orina de un diabético con signos clínicos de cetoacidosis sea suficiente para corroborar este diagnóstico.

La fructosamina es sintetizada cuando moléculas de glucosa se combinan de forma no enzimática y reversible a un agrupamiento amino de residuos de lisina en las proteínas plasmáticas. Este compuesto (aldimina o base de Schiff) se va transformando lenta e irreversiblemente, a través de la transposición de Amadori, en un compuesto estable de cetoamina. Este proceso ocurre en prácticamente todas las proteínas corpóreas, como las proteínas plasmáticas, colágeno y elastinas. La concentración de fructosamina es una medida de todas las proteínas glucosiladas séricas, pero como la albúmina responde por cerca del 50% de las proteínas séricas es mucho más sensible a esa glucosilación. De esta forma, como la vida media de la albúmina es cerca de veinte días, la concentración sérica de la fructosamina ofrece un indicador de la glucemia en las últimas dos semanas antes de recoger la muestra. Se recomienda que cada laboratorio tenga sus propios valores de referencia para perros saludables y diabéticos, debido a la gran variabilidad de resultados encontrados en la literatura. Pacientes diabéticos presentan fructosaminemia del orden de 450 µmol/L o más. Por el mismo principio ocurre la glucosilación de la hemoglobina, en especial de la fracción HbA1, ya que el eritrocito es libremente permeable a glucosa, siendo denominada HbA1c. La glucosilación de la hemoglobina es directamente proporcional a la concentración de glucosa sanguínea, tornando la medición de hemoglobina glucosilada, importante herramienta en la verificación de hiperglucemia crónica. Como la vida media de los eritrocitos caninos está en torno de ciento veinte días, la medición de este analito permite verificar la glucemia de los últimos dos meses antes del muestreo. Como la medición de HbA1c aún no está muy difundida en las rutinas clínicas, y su determinación es más complicada y onerosa (cromatografía y electroforesis) que la medición de fructosamina (método espectrofotométrico), la determinación de fructosamina, asociada a los signos clínicos, datos de anamnesis y registros de peso corporal del paciente, ofrecen bases para realizar ajustes en la terapia insulínica; además, en dos-tres meses pueden ocurrir muchas cosas en la vida de un paciente diabético.

Glucosuria, acetonuria, proteinuria y bacteriuria con o sin la presencia de piuria y hematuria son hallazgos consistentes con DM en el urianálisis. Si grandes cantidades de acetonas se detectan en el examen químico de la orina, especialmente en un animal con signos sistémicos del trastorno (letargo, vómito, diarrea o deshidratación), se debe realizar el diagnóstico de cetoacidosis diabética y establecer terapia apropiada. La presencia de cuerpos cetónicos en la orina se considera diagnóstico de cetoacidosis, pero no de diabetes. La acetonuria puede ocurrir en individuos saludables en ayuno prolongado. Puede haber mayor bacteriuria en perros con DM debido a infecciones ocultas. La lipuria, observada en hasta 40% de los casos de perros diabéticos, ocurre en enfermedades degenerativas de los túbulos, como ocurre en la DM canina, y se caracteriza por la presencia de gotículas de grasa en el análisis del sedimento urinario. La densidad de la orina de perros diabéticos aparece por encima de 1,025 a 1,035. La presencia y severidad de la glucosuria deben siempre ser consideradas en la evaluación de la densidad específica de la orina. Identificación de densidades urinarias menores de 1,020 combinadas con dos cruces de glucosuria sugieren enfermedad concomitante con poliuria y polidipsia, frecuentemente hiperadrenocorticismo o insuficiencia renal. Proteinuria es resultado de infecciones del tracto urinario o daño glomerular con ruptura de membrana basal. La presencia de nefropatía diabética es un hallazgo poco común en perros. El sedimento urinario de pacientes con infecciones urinarias debe ser examinado en busca de eritrocitos, leucocitos y bacterias. La cistocentesis utilizando técnicas asépticas

para urocultura y pruebas de sensibilidad son indicadas debido a la elevada incidencia de infecciones del tracto urinario en perros con DM.

Con relación a mediciones hormonales, se puede sospechar hipotiroidismo luego de revisar la historia, signos clínicos y otros exámenes físicos y de laboratorio. Perros con DM controlada presentan valores normales de tiroxina. No obstante, perros con DM severa y sin control, asociada a otras enfermedades concomitantes, pueden reducir los niveles de T4, llevando al síndrome del eutiroideo enfermo, y no a un hipotiroidismo verdadero, a pesar de que DM puede ocurrir paralelamente a hipotiroidismo. La medición de progesterona sérica es importante en perras intactas independiente de la historia cíclica de la paciente. Frotis vaginales indican la fase del ciclo estral en que las perras se encuentran. Verificación de la insulinemia basal, y pruebas con secretagogos de insulina, no son procedimientos realizados rutinariamente para perros con DM recién diagnosticada. Concentraciones de insulina endógena superiores a 18 μU/mL en perros con diagnóstico reciente de DM pueden sugerir estadios iniciales del trastorno, sobre todo si existe un antagonismo a la insulina que pueda ser identificado y tratado. Sin embargo, el efecto supresor de la hiperglucemia sobre la función de las células β (toxicidad por glucosa) puede interferir en la exactitud de la interpretación de los resultados en los niveles de insulina. Como la mayoría de la DM en los perros se presenta como DMID y las concentraciones de insulina son muy bajas, a menudo indetectables, este no es un examen diagnóstico efectivo. La excepción son los perros con sospecha de estar en los estadios iniciales de DM, como perras en diestro. Debido a la semejanza entre las moléculas de insulina humana y canina, es posible realizar este análisis utilizando inmunoensayos validados para humanos.

Prueba de tolerancia a la glucosa

El test de tolerancia a la glucosa (TTG) es un examen de laboratorio utilizado para determinar la capacidad de un individuo para mantener la glucemia en homeostasis. Este test se basa en suministrar una sobrecarga de glucosa en un corto tiempo, vía oral (4 g/kg de peso) o endovenosa (0,5 g/kg), cuantificando el tiempo necesario para que la glucemia retome sus niveles basales establecidos en una muestra que antecede la administración de glucosa. Así es posible establecer de manera indirecta el desaparecimiento (*clearence*) de la glucosa del plasma, que es dependiente de tres procesos: (1) respuesta secretoria de insulina; (2) capacidad de la glucosa de inducir su propio metabolismo en términos de su captación por los tejidos; y (3) capacidad de la glucosa en inhibir la liberación de más glucosa por el hígado. En monogástricos, al ser administrada una solución de glucosa vía oral, los niveles sanguíneos de este glúcido sufren alteraciones que ocurren de forma trifásica a lo largo del tiempo (**Figura 5.22**): en la fase I la tasa de absorción intestinal de glucosa es mayor que su tasa de captación por las células de los diferentes tejidos. Por consiguiente, los niveles glucémicos se elevan, alcanzando un pico treinta a sesenta minutos después de la administración de glucosa. En esta fase la hiperglucemia, así como el estímulo de hormonas gastrointestinales (gastrina, secretina, colecistoquinina) y de glucagón, desencadenan la liberación de insulina. En la fase II los niveles glucémicos comienzan a disminuir debido al aumento de la liberación de insulina por el páncreas. En esta fase la tasa de remoción de glucosa de la sangre es mayor que la tasa de absorción intestinal de glucosa. En la fase III los niveles glucémicos continúan cayendo, hasta alcanzar una condición de hipoglucemia temporal, retornando a sus valores originales enseguida. De manera general, mientras mayor sea la hiperglucemia durante la fase I, mayor será la hipoglucemia observada en la fase III. En el TTG para caninos y felinos se utiliza una dosis de glucosa vía oral de 4 g/kg de peso, generalmente mezclada con carne. Una primera muestra de sangre se retira para análisis antes de la administración de glucosa y una segunda muestra se retira dos horas después. Para mayor exactitud se pueden tomar tres muestras posprandiales, con intervalos de una hora entre ellas.

Para determinar la vida-media de la glucosa ($T_{1/2}$), se calcula la diferencia de los valores glucémicos ajustados por el intervalo de tiempo, que irá a generar un coeficiente relativo al tiempo transcurrido para que la glucemia caiga a la mitad. Con el valor de $T_{1/2}$ es posible calcular la tasa de depuración de glucosa (k) mediante la siguiente fórmula:

$$k\ (\%/min) = \frac{0{,}693}{T_{1/2}} \times 100$$

Los valores normales de $T_{1/2}$ y de k en caninos son de 25 ± 8 min y 2,76 ± 0,91 %/min, respectivamente. Perros diabéticos tienen mayores valores de $T_{1/2}$ y menores de k. En los rumiantes los valores de referencia de $T_{1/2}$ son de 35 min y los de k son de 1,98 %/min.

En pequeños animales el valor máximo de glucemia (140 mg/dL) se observa treinta a sesenta minutos luego de la administración de glucosa, retornando a los niveles normales en dos o tres horas. Valores de glucemia persistentemente altos después de dos horas de la administración de glucosa pueden ser indicativos de diabetes. En la DMNID también hay intolerancia a glucosa, aunque presentando valores normales o elevados de insulina. Esto significa que la hormona está inactiva debido a algunos factores, tales como: deficiencia o bloqueo de los receptores de insulina, reducción en su actividad debido a causas no establecidas, o alteraciones estructurales en su molécula. En rumiantes el TTG es realizado por la administración endovenosa de una dosis de 0,5 g de glucosa/kg, siendo esta solución preparada en la concentración de 50 g/dL. La administración debe ser realizada en menos de treinta segundos para evitar riesgo de diuresis osmótica, y así como en pequeños animales, es necesario establecer el nivel basal de glucosa (glucemia de ayuno) antes de inyectar la solución (generalmente identificado como muestra -15). De inmediato, son realizados análisis en los tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 min. Los resultados son esbozados en un gráfico semilogarítmico donde el eje *y* corresponde al logaritmo de la concentración sérica de glucosa y el eje *x* corresponde al tiempo transcurrido desde la administración, en minutos (**Figura 5.23**).

Estos análisis de los niveles glucémicos luego de la administración oral o intravenosa de glucosa constituye la fundamentación de la prueba de tolerancia a glucosa existente en la actualidad tanto para humanos como para animales. En casos de hiperglucemia leve la utilización de este test es fundamental para establecer el diagnóstico de una determinada patología asociada al metabolismo de glúcidos. La tolerancia normal implica que el aumento de los niveles séricos de glucosa es poco elevado y el retorno a los niveles normales ocurre en cerca de dos horas. Tolerancia disminuida o intolerancia, como ocurre en individuos diabéticos, se evidencia por la elevación excesiva de glucosa sérica, con retorno demorado a los niveles normales.

Algunos cuidados con los pacientes deben ser destacados, procurando evitar la realización del test en individuos con la salud comprometida, ya que los resultados pueden no reflejar el real metabolismo de la glucosa del paciente saludable. Se debe tener una atención especial también en el cálculo de la dosis de glucosa a ser administrada, pues dosis exageradas pueden resultar en falsos positivos.

Tratamiento de la diabetes mellitus

Los objetivos principales de la terapia inicial en la DM son: proporcionar una cantidad adecuada de insulina para normalizar el metabolismo intermediario, restaurar las pérdidas hídricas y electrolíticas, corregir la acidosis e identificar los factores precipitantes. No se debe forzar el retorno a valores glucémicos normales, proceso que puede llevar de 36 a 48 h. La meta primaria del tratamiento de la DM es eliminar los signos clínicos secundarios a la hiperglucemia y a la glucosuria. Limitar las fluctuaciones en la glucemia, manteniéndola cerca de los valores normales, ayuda a minimizar la severidad de los signos clínicos y a prevenir las complicaciones asociadas a la DM no controlada. También es objetivo del tratamiento la recuperación del estilo de vida del animal y la fuga de episodios de hipoglucemia. En el perro diabético esto puede ser obtenido por uso de terapia insulínica apropiada, dieta, ejercicio y control de disturbios infecciosos, inflamatorios, neoplásicos y hormonales concomitantes. A pesar de que el objetivo de la terapia es normalizar la glucemia, el clínico debe siempre evitar la hipoglucemia, complicación terapéutica seria y potencialmente fatal, derivada de una sobredosis de insulina. Los pacientes con sobrepeso y obesos que presentan intolerancia a la glucosa se pueden beneficiar de prescribirse un programa de pérdida de peso aliado a un programa de acondicionamiento físico. Los problemas relacionados con exceso de peso corporal aconsejan que no es necesaria la demostración de intolerancia a la glucosa en un perro con sobrepeso para que el manejo alimentario y la actividad física sean implementados.

El efecto del tratamiento con insulina en animales diabéticos, sobre todo en la DMID recién diagnosticada, es rápido y efectivo en los primeros días de terapia, lo que posiblemente se explica por la presencia de células beta residuales en el páncreas que son rápidamente destruidas; sin embargo, después de tres-seis meses la

terapia se complica, requiriendo dosis de insulina cada vez mayores. En la terapia insulínica debe evitarse la sobredosificación, que puede llevar a una hipoglucemia grave, seguida por hiperglucemia (efecto Somogyi). Este efecto parece ser debido a un aumento excesivo y temporal de las hormonas antagónicas de la insulina (GH, adrenocorticoides y adrenalina) como respuesta a la hipoglucemia. Dicho efecto demuestra que en el equilibrio de los niveles de glucosa sanguínea intervienen otros mecanismos, además de la insulina.

La deshidratación es corregida usando de preferencia solución de NaCl 0,9%, evitando el uso de solución Ringer lactato, puesto que es un precursor de glucosa. Durante la fluidoterapia la concentración sérica de potasio caerá debido a la rehidratación (dilución), corrección de la acidemia, consumo celular de potasio y pérdidas urinarias continuas, haciendo necesaria su suplementación. La velocidad de administración de potasio no debe exceder 1 mEq/kg de peso corporal/h. La terapia con bicarbonato es por lo general innecesaria cuando el bicarbonato plasmático es de 12 mmol/L o mayor, en especial si el paciente está alerta. Se debe corregir la acidosis metabólica lentamente para evitar alteraciones bruscas en el pH del fluido cerebroespinal.

Tipos de insulina

La insulina usada hoy en día puede ser de origen bovina, porcina o humana biosintética. De acuerdo con su acción se pueden clasificar en rápida (cristalina), intermediaria o regular, lente y ultralente. La insulina regular se caracteriza por un comienzo de acción rápido y corto tiempo de duración del efecto, generalmente utilizada en el control intensivo de pacientes con cetoacidosis diabética. La insulina regular cristalina es la única que puede ser utilizada por las vías SC, IM e IV. Las preparaciones de larga acción (ultralente, PZI y NPH) son más utilizadas en el manejo a largo plazo del paciente diabético por promover una suplementación continua durante horas con una simple inyección. Lo que hace que estas insulinas presenten diferentes tiempos de absorción, inicio de acción y tiempo de efecto máximo, es la cantidad de zinc en su composición y el tamaño de los cristales de zinc-insulina en la preparación. Entre mayor sea el tamaño de los cristales, menor será la tasa de absorción en el punto de aplicación subcutáneo y, por consiguiente, mayor el tiempo de acción. Algunas mezclas de insulinas de larga y corta acción están disponibles en el mercado (70% NPH /

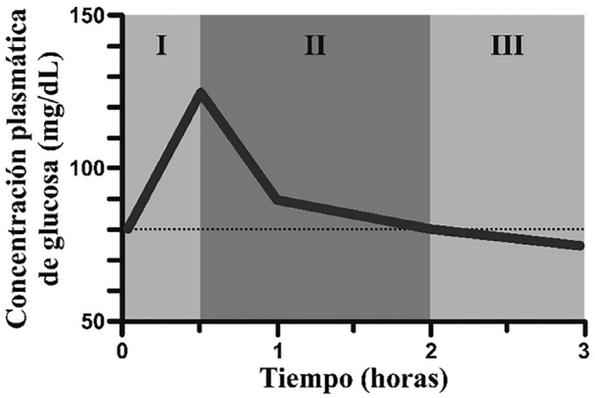


Figura 5.22. Curva de tolerancia a la glucosa

Variaciones de la glucemia después de la administración oral de glucosa (tiempo 0) en pacientes sanos. La línea punteada corresponde a la glucemia fisiológica. Las tres fases están indicadas: I, fase de aumento de la glucemia hasta alcanzar la concentración plasmática máxima; II, fase de retorno de la glucemia a los niveles fisiológicos; III, fase de hipoglucemia transitoria.

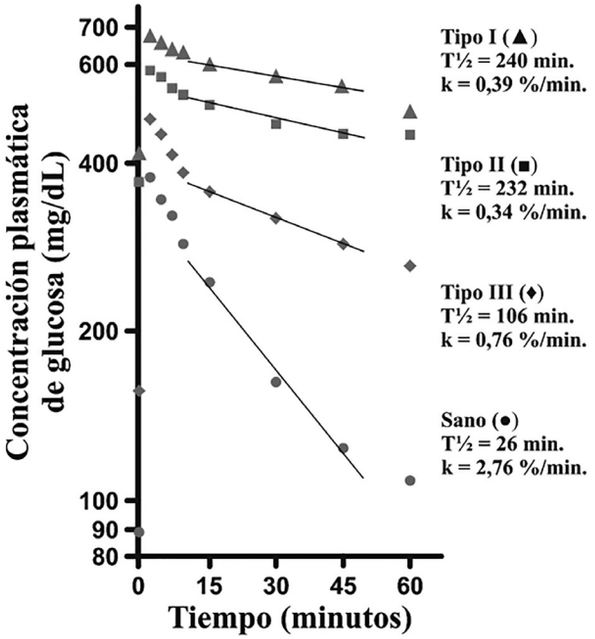


Figura 5.23 Prueba endovenosa de tolerancia a la glucosa en perros sanos y con diferentes tipos de diabetes mellitus

Variaciones de la glucemia después de la administración endovenosa de glucosa (en el tiempo 0). Los valores de vida media ($T_{1/2}$) y de la tasa de depuración de glucosa (k) se indican junto a las respectivas curvas. (Modificado de Kaneko *et al*., 1997).

30 % regular, o 50 % NPH / 50 % regular); sin embargo, estas presentaciones son utilizadas solo cuando las preparaciones más convencionales de insulina fallan al establecer el control glucémico. La **Tabla 5.5** muestra los tipos de insulina y sus características, ordenadas de menor a mayor potencia. Existe relación inversa entre la potencia de la insulina y la duración de su efecto. De menos potente a más potente las insulinas disponibles comercialmente están en la siguiente secuencia:

Insulina glargina → ultralente → PZI → lente → NPH → cristalina → insulina lyspro

Gracias al uso de la tecnología de DNA recombinante se produjeron análogos de la insulina humana, con acción más rápida o más lenta. Los análogos de insulina de acción rápida sufrieron pequeñas alteraciones estructurales en la molécula y son la insulina lyspro e insulina aspart. La insulina glardine (Lanthus) es un análogo de la insulina, que por formar precipitados en el punto de aplicación presenta un efecto prolongado. Este análogo no se considera una primera opción para el tratamiento de perros diabéticos. Las insulinas de acción intermediaria (lente, NPH) son las de elección para establecer control de la glucemia en perros diabéticos.

La terapia insulínica debe iniciarse con dosis de 0,5 U/kg de insulina recombinante humana lente o NPH, cada doce horas. Las insulinas recombinantes humanas son comercializadas con una concentración de 100 U/mL. El uso de insulina dos veces por día disminuye la probabilidad de que aparezcan problemas como la hipoglucemia y el efecto Somogyi, además de facilitar el control glucémico. Las insulinas de larga acción como la PZI y la ultralente resultan menos útiles en el tratamiento porque sus picos de acción son muy variables. La vía de administración es siempre subcutánea, excepto la insulina cristalina, que puede ser administrada por vía intravenosa o intramuscular. El objetivo de la insulinoterapia inicial, utilizando solamente insulina regular de acción rápida o semilenta, es reducir lentamente la concentración sanguínea de glucosa a valores próximos de 200-250 mg/dL por un período de ocho horas. Lo ideal es una disminución de aproximadamente 75 mg/dL/h. La primera elección de insulina para el perro diabético es la insulina lente o la NPH administrada dos veces al día. En el caso de perros pequeños (peso menor que 15 kg) se administra aproximadamente 1 U/kg de peso corporal y en el caso de perros grandes (peso mayor que 25 kg) 0,5 U/kg. En el gato diabético la primera elección es la insulina lente o la ultralente administrando de 1 a 3 U dos veces diarias. El ejercicio es importante en el animal diabético para disminuir el peso corporal y la resistencia a la insulina presente en animales obesos. El ejercicio también tiene efecto normoglucemiante, al aumentar la movilización de insulina desde el punto de inyección. Se prefiere que el ejercicio sea moderado y realizado siempre en el mismo horario.

Monitoreo de la terapia insulínica

Al comienzo de la terapia insulínica conviene medir la glucemia cada dos-tres horas (curvas seriadas de glucemia) después de la inyección de insulina y la alimentación matinal del animal para evitar una hipoglucemia (valores menores que 80 mg/dL) y poder determinar la dosis más adecuada de insulina. La meta es mantener la glucemia entre 120 a 250 mg/dL y eliminar la sintomatología diabética. Si el nadir de glucosa es mayor que 150 mg/dL se debe incrementar la dosis de insulina. Si el nadir es menor que 80 mg/dL la dosis de insulina debe disminuir. La curva seriada de glucemia sirve también para determinar la duración del efecto de la insulina, que en el caso de la lente o la NPH debe ser de diez-catorce horas, necesitando, por tanto, dos inyecciones diarias. El comportamiento de la curva seriada puede estar afectado por factores como la dieta, el ejercicio físico y el estrés. Algunas directrices para ajustar la dosis de insulina, con base en los valores de nadir y las glucemias previas a la administración de insulina, son las siguientes:

— Reducir la dosis de insulina en 50 % si el nadir es menor de 55 mg/dL, o en caso de que el paciente presente signos de hipoglucemia.

— Reducir la dosis de insulina en 20 % si el nadir está entre 55 y 90 mg/dL, o si la glucemia preinsulina es menor de 180 mg/dL.

— No aplicar insulina si la glucemia preinsulina es menor de 90 mg/dL, caso en que el animal se alimentará normalmente y al día siguiente se reiniciará la insulinoterapia con una dosis un 20 % menor.

— Se tiene un excelente control glucémico cuando el nadir esté entre 90 y 145 mg/dL, y la glucemia preinsulina sea mayor de 180 mg/dL.

— Aumentar la dosis de insulina en 20 % si el nadir es mayor de 145 mg/dL y la glucemia preinsulina es mayor de 180 mg/dL.

— En animales no letárgicos, con peso estable, no cetonúricos e ingiriendo menos de 60 mL/kg/día de agua, cualquier alteración en la dosis de insulina debe ser de apenas una unidad, independiente de la dosis actual.

La resistencia a la insulina está caracterizada por la existencia de valores de glucosa extremadamente aumentados (mayor que 500 mg/dL), causados por enfermedades concurrentes o el uso de medicamentos. También se consideran casos de resistencia cuando dosis de insulina entre 1 y 1,5 U/kg son ineficaces para promover la reducción de la glucemia. La medición de fructosamina ayuda en la detección de eventuales situaciones de hipoglucemia, principalmente en casos de animales estresados, agresivos y nerviosos, y de esta forma poder adecuar la dosis de insulina. Cada laboratorio debe establecer los límites de fructosamina considerados como hipo-, normo- o hiperglucémicos. Se sabe que una terapia insulínica es inadecuada cuando aparecen signos típicos de diabetes (poliuria, polidipsia, letargo, adelgazamiento, pelo opaco) y la glucemia matinal se encuentra por encima de 300 mg/dL. Los niveles de potasio plasmático también ayudan en la detección de dosis inadecuadas de insulina, pues el exceso de insulina causa hipocalemia. Un adecuado tratamiento de insulina no debe provocar glucosuria persistente, pero hay que advertir al dueño del animal el no ajustar por su cuenta la dosis de insulina aunque aparezcan indicios de glucosuria o cetonuria. Si la respuesta inicial a la terapia no es satisfactoria, no es aconsejable aumentar la dosis inicial de insulina inmediatamente, sino que se debe dejar que el perro se acostumbre a esa dosis durante algunos días. La respuesta a la insulina mejora con el tratamiento cuando la hiperglucemia crónica está controlada. Cuando se alcanza buen control de la glucemia se observa clara mejoría de los signos clínicos, apreciando reducción del letargo, polidipsia, poliuria y pérdida de peso.

Diversos métodos pueden ser utilizados para monitorizar el control glucémico en perros diabéticos. Para el control de la glucemia de los pacientes en casa se recomienda que todo propietario mantenga un control diario del apetito del perro, comportamiento general (especialmente apatía), así como un registro semanal del peso del animal y de la presencia de glucosuria y acetonuria en la orina por medio de tiras reactivas. Si se observa aumento en la ingestión de agua y producción de orina asociados a letargo y pérdida de peso, será necesario realizar ajustes en la terapia insulínica. La opinión subjetiva del propietario sobre el estado general del animal y la resolución de los signos clínicos es la información más importante en la evaluación inicial del control glucémico. La monitorización ocasional de la orina buscando glucosuria y acetonuria es útil en pacientes que presentan predisposición a desarrollar hipoglucemia, una vez que la presencia de acetonuria es indicativa de desequilibrio en el control glucémico. La ausencia persistente de glucosuria es indicativo de hipoglucemia. Este procedimiento puede ser fácilmente realizado con el uso de tiras reactivas. Asimismo, es interesante que el propietario de un paciente diabético tenga en casa un glucómetro portátil para realizar mediciones de glucosa antes de la aplicación de insulina, cuando sospeche de episodios hipoglucémicos, o incluso realizar curvas glucémicas seriadas en casa. Los glucómetros que utilizan una mínima cantidad

Tabla 5.5 Características de los tipos de insulina (administración subcutánea)

Tipo de insulina	Duración de la acción	Inicio	Tiempo de efecto máximo (h)	Duración del efecto (h)
Cristalina	rápida	10 - 30 min	1 - 5	4 - 10
Lente	intermediaria	0,5 - 2 h	2 - 10	6 - 20
NPH*	intermediaria	0,5 - 2 h	2 - 10	4 - 18
PZI**	larga	1 - 4 h	3 - 12	6 - 24
Ultralente	larga	0,5 - 8 h	4 - 16	6 - 24

* Neutral Protamine Hagedorn; ** Protamine Zinc Insulin

de sangre para medir la glucosa (media gota) son preferibles y el punto de elección para la recogida de muestra es la cara interna de la oreja, siendo a veces necesario calentar previamente con compresas para evitar la coagulación. Algunos autores relatan que las mediciones con glucómetros portátiles difieren de las realizadas en laboratorios, habiendo tendencia a subestimar la glucemia, en especial cuando los valores están por debajo de 60 mg/dL. Pese a todo, estos equipos presentan buena exactitud y son útiles en el manejo del paciente diabético. De forma general, estas diferencias de medición comparando los glucómetros portátiles y los métodos de química húmeda no afectan la conducta terapéutica. Algunos puntos alternativos para la obtención de una gota de sangre son los cojines de la pata, la punta de la cola, o la mucosa labial interna; para este fin se pueden utilizar lancetas comerciales junto con los aparatos de medición.

Terapia dietética

Independientemente de la terapia utilizada, se debe instituir una terapia dietética, teniendo como objetivo reducir el peso, mantener una regularidad y minimizar las fluctuaciones glucémicas posprandiales. En la composición de la dieta es importante que la cantidad de energía no sea muy baja al punto de no suministrar suficiente para el metabolismo, ni tampoco muy alta, para que el animal no gane mucho peso. Se deben incluir fibras solubles e insolubles, que promueven pérdida de peso, absorción intestinal lenta de glucosa y reducción de las fluctuaciones de glucosa sanguínea posprandial. Para caninos es importante el uso de glúcidos complejos y alta cantidad de fibras, principalmente solubles (pectina), mientras que para los felinos es importante baja cantidad de glúcidos y alta cantidad de proteínas. Los mecanismos propuestos para explicar la reducida absorción de glucosa en el intestino inducido por fibras y la consecuente mejora en el control glucémico del perro diabético, son: (1) retardo en el vaciamiento gástrico de nutrientes, (2) retardo en la absorción intestinal de nutrientes, resultado de un efecto directo en la difusión de glucosa con dirección a las microvellosidades del intestino, y (3) un efecto inducido por las fibras sobre la liberación, en la circulación, de hormonas gastrointestinales reguladoras.

Es necesario tomar en cuenta el pico posprandial de glucemia, que ocurre en una o dos horas, y el tiempo de la insulina en iniciar su efecto. Se debe disponer la mitad de la cantidad total de alimento diario al momento de inyectar la insulina, intentando aproximar los picos de glucemia y del inicio de funcionamiento de la insulina. Dentro de la estructura horaria de acción de la insulina debe servirse lo restante del alimento en pequeñas y múltiples porciones a fin de minimizar el efecto hiperglucémico de cada comida. Para los felinos se puede dejar el alimento a voluntad, debido a sus hábitos alimentarios. Las dietas comerciales para gatos con diabetes contienen cada vez menos glúcidos (sea por poco contenido de ellos o por alto contenido de fibra) y alta proteína, lo que ha mostrado ser efectivo en controlar la glucemia. Existen en el mercado marcas de raciones que atienden las exigencias de fibras en perros diabéticos, y la cantidad de fibra en estos productos varía de 3 % a 25 % sobre la materia seca (raciones comunes contienen menos del 2 % de fibra). En general, dietas que contengan por lo menos 12 % de fibra insoluble u 8 % de una mezcla de fibras solubles e insolubles son efectivas en mejorar el control glucémico de perros diabéticos.

Las complicaciones clínicas más comunes en perros que están comiendo dietas ricas en fibras insolubles es la excesiva frecuencia de defecación, estreñimiento, hipoglucemia después de 1 a 2 semanas de iniciada la dieta, y rehúsa en comer el alimento. En los casos en que las heces firmes se vuelven un problema debido al nivel de fibras insolubles en la dieta, una mezcla de fibras insolubles y solubles puede ser suministrada al animal, o simplemente fibra soluble. De forma contraria, las complicaciones más relevantes en perros que consumen dietas ricas en fibras solubles incluyen heces blandas a pastosas, flatulencia excesiva, hipoglucemia después de una a dos semanas del inicio de la dieta y que rehúsan comer. En el caso de que la diarrea y la flatulencia se vuelvan un problema derivado de ingerir alto nivel de fibras solubles, se debe reducir la cantidad de fibra soluble e incorporar fibras insolubles a la dieta. Para estimular el consumo en los casos en que el paciente rehúsa consumir la ración, se puede cambiar regularmente la fuente y el tipo de fibra para atenuar el problema. Sin embargo, es muy importante predecir una respuesta glucémica al alimento ingerido, ya que el régimen terapéutico con la insulina es fijo. De esta manera las comidas deben, preferiblemente, contener los mismos ingredientes y calorías.

La cantidad de proteína de la dieta es un punto de controversia en humanos, pues a pesar de que la proteína es un secretagogo de insulina, es mucho menos potente

que la glucosa. Variaciones en la cantidad de proteína en la dieta pueden influenciar el control metabólico de la diabetes mellitus por alterar la disponibilidad de sustratos para la gluconeogénesis, así como las secreciones hormonales contrarregulatorias. Como el consumo prolongado de cantidades excesivas de proteína, especialmente en conjunto con altos niveles de fósforo y sodio, pueden contribuir a la progresión de la nefropatía diabética en humanos, y el consumo de dietas con bajo tenor proteico reduce la velocidad de desarrollo de esta complicación, parece prudente recomendar una ingestión proteica reducida para perros diabéticos, atendiendo a las necesidades diarias, aunque sin exagerar (menos del 30% de proteína en una base de energía metabolizable). También es recomendada la ingestión reducida de proteínas cuando existe evidencia de insuficiencia renal, a pesar de que la nefropatía diabética es un fenómeno raro en caninos. Perros con DMID, aun mantenidos euglucémicos, presentan aumento significativo en el catabolismo de aminoácidos con terapia insulínica por vía subcutánea, y este aumento es más pronunciado en perros alimentados con dietas ricas en proteínas.

Desarreglos en el metabolismo de las grasas son comunes en pacientes diabéticos e incluyen concentraciones séricas elevadas de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas y ácidos grasos libres, además de lipidosis hepática, aterosclerosis y la predisposición para desarrollo de pancreatitis. La ingestión de dietas ricas en grasa también lleva a resistencia insulínica, estimula la producción de glucosa hepática y suprime la función de las células β. De esta forma es aconsejable alimentar perros diabéticos con dietas de bajo contenido en grasa (menos de 30 % en una base de energía metabolizable). Este tipo de dieta también ayuda a reducir el riesgo de pancreatitis, controlar algunos aspectos de la hiperlipidemia y aminorar el incremento calórico de la dieta, favoreciendo la reducción o manutención del peso. De cualquier forma, una alimentación rica en grasas puede ser necesaria para promover ganancia de peso en perros diabéticos muy flacos o emaciados, ya que dietas ricas en fibras son contraindicadas en esos pacientes debido a su bajo contenido calórico; sin embargo, un control glucémico excelente puede ser obtenido utilizando raciones comerciales de manutención de perros adultos saludables, considerando que el principal punto del tratamiento de la DM canina es la insulinoterapia.

La obesidad causa una reducción en la tolerancia a la glucosa en perros y puede ser un importante factor envuelto en las variaciones de la respuesta a la insulina en perros diabéticos. La reducción del peso mejora el control glucémico en perros, probablemente por la reversión de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. El éxito en la reducción del peso requiere una combinación de restricción calórica, alimentación con dietas con bajo contenido de grasa y aumento del gasto calórico-energético mediante ejercicios. Es importante comenzar un régimen alimentario que permita al perro reducir su peso gradualmente hasta un peso corporal ideal. La insulina es una hormona anabolizante, y perros recibiendo altas dosis pueden estar predispuestos a la obesidad.

El peso ideal para el paciente puede ser estimado con base en la revisión de los archivos médicos de cuando el animal estaba con una condición corporal ideal o por uso de tablas con pesos específicos de cada raza. Es muy importante establecer metas realistas de pérdida de peso. Para alcanzar una pérdida de peso del orden de 15%, los perros pueden comer 55 x [peso inicial ($kg^{0,75}$)] kcal por día durante 12 semanas. A pesar de existir diversas raciones específicas para pérdida de peso, es recomendado el uso de raciones que utilicen buena cantidad de fibras en perros diabéticos obesos. La cantidad de alimento y el horario de las comidas serán determinados de acuerdo con el régimen terapéutico con la insulina. Además de la reducción de la ingestión calórica, se debe incentivar la pérdida de calorías estimulando la práctica de ejercicios. Una vez alcanzado el peso ideal del paciente diabético se debe substituir la alimentación por una ración específica para manutención. La escala de alimentación debe ser realizada de modo que favorezca el efecto de la insulina y minimice la hiperglucemia postprandial. La ingestión calórica diaria debe ser hecha cuando la insulina aún está presente en la circulación y capaz de promover la absorción de la glucosa aprovechada de la dieta. Típicamente, perros diabéticos reciben insulina dos veces por día y reciben dos comidas de tamaños iguales en el horario de cada aplicación de insulina. Este método es práctico por simplificar el régimen terapéutico en casa, además de ofrecer mayores probabilidades de un buen control glucémico y muchos propietarios entienden que están recompensando sus perros con alimento luego de la aplicación de la inyección. Si el paciente está recibiendo solamente una dosis de insulina por día debe recibir una comida al momento

de la aplicación y otra de igual tamaño cerca de 8 a 10 horas después. Este esquema funciona bien para perros glotones. En caso de perros que comen varias veces por día deben quedar con la ración disponible durante todo el día, manteniendo el comportamiento alimentario del perro y permitiéndole que escoja cuándo y cuánto comer; sin embargo, mejores resultados son observados con aplicación de insulina dos veces por día, asociado a dos comidas al momento de cada aplicación. Cuando se aplica la insulina y el paciente no come, se crea una situación de riesgo para presentación de hipoglucemia, y de una forma general, se debe evitar que el paciente coma cuando quiera. Esto crea la necesidad de estrategias para estimular la ingestión de todo el alimento a la hora de la aplicación de la insulina. La adición de mínimas cantidades de pechuga de pollo cocida, triturada y mezclada a la ración, puede facilitar la ingestión de la comida, pues es conocida la menor palatabilidad de las raciones ricas en fibras. Frecuentemente la DM es acompañada por otras enfermedades que también presentan dietas terapéuticas como forma de tratamiento, como es el caso de la insuficiencia renal crónica, insuficiencia cardíaca, molestias hepáticas o pancreatitis recurrente. En el caso de que una de estas enfermedades pueda estar ocurriendo concomitantemente, se debe utilizar una ración específica para control de tal enfermedad, ya que la dieta en la DM es una terapia adjunta, y el control glucémico puede ser obtenido por el uso de la insulina.

Ejercicios en la terapia de la diabetes mellitus

El ejercicio presenta un importante papel en el mantenimiento de la glucemia en perros diabéticos, al controlar el peso y eliminar la resistencia insulínica inducida por la obesidad. Además, el ejercicio aumenta la movilización de insulina desde el punto de aplicación (al aumentar la circulación sanguínea y linfática), y el flujo sanguíneo muscular, lo que lleva a una mayor disponibilidad de insulina en el tejido. Además, el ejercicio promueve y estimula la translocación de transportadores GLUT-4 para la membrana celular, aumentando la captación de glucosa en el músculo esquelético. El ejercicio también mejora la distribución de glucosa en pacientes hiperglucémicos en presencia de concentraciones basales de insulina. La rutina diaria de un paciente diabético debe incluir ejercicios preferiblemente a la misma hora del día, evitando ejercicios esporádicos y extenuantes que pueden causar hipoglucemia. Es recomendable, reducir la dosis de insulina a la mitad los días en que el animal sea sometido a ejercicios prolongados y extenuantes. Es difícil acertar la dosis de reducción para cada animal, por eso se recomienda hacer pequeños ajustes observando si hay signos de hipoglucemia o poliuria y polidipsia en las siguientes 24 a 48 horas. Los propietarios deben ser conscientes de los riesgos y conocer los signos de hipoglucemia y tener a disposición una fuente de glucosa en caso de emergencia (azúcar, comida).

Los animales diabéticos que no estén recibiendo una terapia insulínica no deben realizar mucho ejercicio. En ausencia de insulina, la práctica de ejercicio induce una respuesta contraregulatoria exagerada de cortisol, catecolaminas, glucagón y hormona del crecimiento. El resultado es un marcado aumento de la glucemia, ácidos grasos libres circulantes, lactato y otros metabolitos, que predisponen al desarrollo de una severa crisis cetoacidótica. Cuando la insulina se administra cada 12 horas, se debe evitar la realización de ejercicio durante el pico de acción de insulina, ya que se registran los menores valores de glucosa, con el consiguiente riesgo de hipoglucemia. El mejor momento para realizar ejercicio físico es después del pico de insulina, cuando aumentan los niveles de glucosa y la actividad física puede ayudar a regularla. Para conocer el momento del día en el que se produce el pico de insulina es necesario realizar una curva de glucosa seriada. Sin embargo, cada paciente presentará una respuesta distinta a la práctica de actividad física, siendo difícil recomendar un único protocolo válido para todos los pacientes.

Drogas hipoglucemiantes

Existen diversas sustancias hipoglucemiantes de uso oral en humanos que padecen DM tipo II, y muchos de ellos presentan un buen efecto sobre el control de la glucosa en gatos diabéticos. En la especie canina, no se recomienda el uso de estos fármacos ya que no presentan los mismos efectos beneficiosos que los gatos. Las sustancias de la familia de las sulfonilureas (glipizide, glyburide, glibenclamide y tolbutamide) actúan aumentando la secreción de insulina por las células β. Como los perros diabéticos no presentan función suficiente de células β, estos fármacos no causan ninguna mejora en el control de la glucosa, además de causar un agotamiento de las células beta que impedirá la remisión del estado diabético frente a antagonismos hormonales (diabetes mellitus transitoria).

Existen otros grupos de fármacos que mejoran el efecto de la insulina al promover un aumento en la sensibilidad periférica a la hormona, y son muy utilizados en humanos con DM tipo II, pero no en pacientes con DM tipo I. Estos grupos son las biguanidas (biguanida metformina, que inhibe la liberación hepática de glucosa), y las tiazolidinedionas (troglitazona, pioglitazona y rosigilitazona, que facilitan la distribución de glucosa dependiente de insulina e inhiben la secreción hepática de glucosa mediante la gluconeogénesis y la glucogenólisis). Debido a la falta de estudios controlados e informaciones acerca del uso por largos períodos de estos fármacos en perros diabéticos, su uso debe ser restringido a casos de diabetes mellitus mal controlada donde el motivo del débil control no puede ser identificado.

También existen oligosacáridos complejos de origen microbiano, acarbosa y miglitol, que inhiben competitivamente las α-glucosidasas (glucoamilasa, sacarasa, maltasa e isomaltasa) en las microvellosidades de la mucosa intestinal. La inhibición de estas enzimas retarda la digestión de glúcidos complejos y disacáridos a monosacáridos. De esta forma, aumenta la digestión de glúcidos en el íleon y en el colon, reduciendo la absorción de glucosa en el tracto intestinal, reduciendo también la hiperglucemia postprandial. A pesar de que existe la posibilidad de que la acarbosa ayude positivamente en el tratamiento de perros diabéticos, su uso como único método de control glucémico no es efectivo en el control de la diabetes mellitus. Además, pueden aparecer efectos adversos como la diarrea y la pérdida de peso asociada a la mala asimilación de glúcidos. Como se trata de un fármaco costoso, solo se recomienda su utilización cuando se desconoce el motivo de la falta de control glucémico, y la terapia insulínica no consigue evitar los signos clínicos asociados a la diabetes mellitus.

El uso de suplementos alimentarios para humanos, como hierbas y vitaminas, utilizados para reducir la glucemia y la hiperlipidemia y evitar la aparición de complicaciones crónicas de la enfermedad (aterosclerosis, retinopatía), no son de gran utilidad en perros diabéticos, ya que estas son terapias utilizadas en pacientes con DM tipo II, para retrasar la aparición de complicaciones, que son poco comunes en perros. Existen otras sustancias hipoglucemiantes menos empleadas que pueden ser de origen vegetal, *Cissus sicyoides, Syzygium cumini* y *Arcticum* spp, o minerales como el vanadio y el cromo.

La decisión de usar un tratamiento con insulina o con drogas hipoglucemiantes dependerá de la severidad de los signos clínicos, la presencia o no de cetoacidosis y el estado de salud general del animal.

Complicaciones de la terapia insulínica

— Hipoglucemia

La severa hipoglucemia resultante de una sobredosis de insulina puede causar daños cerebrales irreversibles e incluso la muerte. Los signos clínicos de neuroglucopenia incluyen debilidad, agitación, andar acelerado, anorexia y diarrea. Los casos más graves evolucionan hacia ataxia, ceguera, temblores, taquicardia, desmayos y coma, ocasionalmente asociado a áreas multifocales de necrosis. La hipoglucemia subclínica, donde el paciente no muestra signos de hipoglucemia, es una consecuencia de las alteraciones en el transporte cerebral de glucosa y en los mecanismos de respuesta contrareguladores mediados por catecolaminas. Este fenómeno es común en humanos y también es observado en animales. La hipoglucemia acelera la entrada de glucosa en el cerebro, haciendo que el cerebro no se vea tan afectado, ni se desencadenen los signos de alerta comúnmente observados.

En perros que no reciben tratamiento adecuado para controlar los niveles de glucosa pueden aparecer episodios graves de hipoglucemia. El riesgo de hipoglucemia es mayor cuando: (1) los perros reciben insulina una vez por día en vez de dos, y (2) cuando presentan buen control glucémico y la aplicación de una nueva dosis de insulina induce a la aparición de una hipoglucemia severa. También existe gran variedad de factores médicos y de manejo que pueden simular una sobredosis de insulina, como pueden ser una incompleta mezcla de la suspensión de insulina, la administración de insulina en intervalos irregulares, la falta de apetito, el ejercicio excesivo y la mejora en la sensibilidad a la insulina asociada al fin del diestro o al tratamiento de enfermedades concomitantes como el hiperadrenocorticismo.

Otras causas de hipoglucemia en pacientes diabéticos incluyen el hipoadrenocorticismo, los tratamientos con hormonas tiroideas en hipotiroidismos concomitantes a una DM y la hiperactividad después de realizar una facoemulsificación. De todas formas, la principal causa de hipoglucemia es la sobredosis de insulina. Episodios recurrentes de hipoglucemia

inducen una *down-regulation* del SNC en humanos, de forma que cuanto mayor sea la frecuencia de los episodios hipoglucémicos, más débil es la respuesta contrarreguladora y mayor la probabilidad de que exista hipoglucemia subclínica. Si aparecen signos leves de hipoglucemia el propietario debe proporcionar una toma de comida al perro. En caso de que el animal no tenga ganas de comer o sea incapaz de alimentarse es necesario administrar un jarabe por vía oral con alta concentración de glucosa, o distribuir azúcar por la mucosa oral. Cuando aparecen signos clínicos relacionados con un episodio de hipoglucemia es recomendable reducir a la mitad la dosis de insulina.

— Persistencia o recurrencia de los signos clínicos

Entre las principales complicaciones de un tratamiento con insulina se encuentra la persistencia o recurrencia de los signos clínicos asociados a la DM, como son poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso. Estas complicaciones están relacionadas con problemas en la técnica de administración, con el tipo de insulina empleado (corta duración del efecto), con la aplicación de una dosis insuficiente, con la especie de la cual proviene la insulina, con la frecuencia de administración e incluso con la efectividad de la hormona. La aparición de reacciones alérgicas en el punto de inyección es rara en perros, pero cuando ocurre la inflamación y el edema local perjudican la absorción de insulina, siendo necesario variar el lugar de las aplicaciones y/o cambiar el tipo de insulina por una más homóloga y purificada, como la insulina cristalina regular.

— Efecto Somogyi

El efecto Somogyi, o rebote hiperglucémico, es un fenómeno derivado de una sobredosis de insulina con consecuente hipoglucemia y acentuada elevación secundaria de la glucemia. Este efecto se caracteriza por un fenómeno fisiológico en respuesta a la reducción muy rápida de la glucemia, o a una glucemia menor de 65 mg/dL. En estas situaciones se estimulan diversos mecanismos fisiológicos que interfieren con el efecto de la insulina y estimulan la producción de glucosa hepática, principalmente la liberación de adrenalina y glucagón, que no solo estimulan la producción de glucosa, sino que también disminuyen su utilización periférica. De esta manera, después del episodio hipoglucémico, por lo general a la mañana siguiente, se observa una marcada hiperglucemia (400 a 800 mg/dL) acompañada de glucosuria. La terapia para el efecto Somogyi incluye reducir la dosis de insulina en un 10% - 25% o, en algunos casos, reiniciar la terapia insulínica con 0,25 U/kg dos veces al día. En estos casos se recomienda reevaluar al paciente después de 5 a 7 días, ya que este fenómeno puede inducir resistencia a la insulina durante un período de 24 a 72 horas. La duración prolongada del efecto de la insulina, con sobreposición del efecto entre una dosis y otra, así como los ajustes en la dosis de insulina realizados por los dueños basándose en la aparición de una glucosuria matinal, son factores con frecuencia involucrados en la presentación del efecto Somogyi.

— Anticuerpos antiinsulina

La producción de anticuerpos antiinsulina en perros diabéticos presenta un impacto deletéreo en la efectividad de la insulina, perjudicando el control glucémico y en casos extremos provocando severa resistencia a la insulina, a pesar de que algunos animales con anticuerpos antiinsulina se mantienen estables. La presencia de estos anticuerpos también puede causar fluctuaciones erráticas e imprevisibles en la glucemia. La creación de anticuerpos contra la insulina puede afectar la farmacocinética de la insulina exógena al perjudicar su farmacodinámica o neutralizar su efecto. Estos anticuerpos se desarrollan en algunos animales después del inicio de la terapia insulínica en respuesta a aplicaciones repetidas de la hormona para promover el control glucémico; sin embargo, no todos los animales desarrollan anticuerpos, probablemente debido a la tolerancia del sistema inmune a la proteína exógena que está siendo administrada diariamente. Estos anticuerpos difieren de los encontrados en pacientes que desarrollaron autoinmunidad contra la insulina endógena y otros componentes de los islotes pancreáticos. Existe gran variación en el tiempo de insulinoterapia necesaria para la formación de anticuerpos, algunos animales desarrollan anticuerpos un mes después del tratamiento y otros nunca llegan a desarrollarlos. Algunos estudios sugieren la necesidad de un adyuvante para que se formen anticuerpos contra la insulina, como son las impurezas y las sustancias utilizadas a fin de aumentar el efecto de la insulina (protamina). Las diferencias en la estructura y secuencia de aminoácidos de la insulina inyectada con respecto a la insulina endógena influyen en la formación de anticuerpos. En perros, la insulina porcina es la menos antigénica por presentar una secuencia de aminoácidos idéntica a la insulina canina. La insulina humana difiere en apenas un aminoácido, mientras que la bovina difiere en dos, siendo por tanto la más

inmunogénica y menos indicada para su uso en perros diabéticos. A pesar de que es poco frecuente en perros, cuando se desconoce la causa del pobre rendimiento del tratamiento es necesario valorar la posibilidad de que sea por la creación de anticuerpos antiinsulina.

— Resistencia insulínica

La resistencia insulínica es una condición en la cual una cantidad normal de insulina produce una respuesta biológica deficiente, y puede estar causada por problemas previos a la interacción de la insulina con su receptor o problemas en el receptor o en las cascadas fosforilativas posreceptor. Los defectos prerreceptor son derivados de una reducción en la cantidad de insulina metabólicamente activa, por un aumento en la degradación de la insulina, o por la creación de anticuerpos antiinsulina. Los defectos de receptor se deben a la menor concentración de receptores de insulina en la membrana plasmática, con reducción en la actividad tirosina quinasa del receptor. Los defectos posreceptor son consecuencia de una reducida concentración y fosforilación de IRS-1 e IRS-2, fosfatidil-inositol 3-hidroxiquinasa, mutaciones en los transportadores de glucosa, alteraciones tejido-específicas en la producción de GLUT-4, defectos en la translocación intracelular de GLUT-4 o en las vías de señalización y enzimas intracelulares.

Existen diversos factores que pueden estar involucrados en la modulación de la acción de la insulina y de la resistencia insulínica, como por ejemplo la insulina *per se*, el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), interleucinas, ácidos grasos y productos derivados de la glucosilación de proteínas que influyen en la acción de la insulina a través de interferencias con las vías de señalización de su mecanismo de acción. El tejido adiposo desempeña un papel esencial en la resistencia a la insulina. Los ácidos grasos libres procedentes de los adipocitos son los responsables de los disturbios posreceptor que producen la resistencia, así como otras sustancias secretadas por estas células, como las adipocitocinas, leptina y TNF-α. Los problemas en los receptores y en las cascadas fosforilativas posreceptor son difíciles de diferenciar y pueden ocurrir juntos. Se atribuyen a la obesidad y a la desregulación en el metabolismo de los ácidos grasos, o a disturbios intercurrentes que causen mayor secreción de hormonas antagónicas a la insulina, como el cortisol, glucagón, adrenalina, hormona del crecimiento, progesterona y hormonas tiroideas. A nivel experimental, en perros hiperinsulinémicos se descubrió que el aumento de insulina influye en la aparición de resistencias periféricas. Fue comprobado que los mecanismos de resistencia a la insulina se deben a una menor captación de glucosa inducida por la insulina o a una alteración en la cinética de captación de glucosa por reducción en la actividad tirosina quinasa del receptor de insulina. La presentación de glucemias altas con poca reducción después de la administración de insulina indica la existencia de resistencia a la insulina por enfermedad intercurrente o medicaciones. También se puede sospechar de resistencia a la insulina cuando el control glucémico es errático y hay necesidad de cambiar constantemente la dosis de insulina para mantenerlo. Otras causas pueden ser la hiperglucemia por estrés, el efecto Somogyi, problemas con la terapia insulínica y enfermedades intercurrentes.

Pronóstico de la diabetes mellitus

El éxito de la terapia a largo plazo en los animales diabéticos ha mejorado mucho en los últimos años gracias a los grandes avances en las tecnologías disponibles, como los estudios de manejo nutricional del paciente diabético, las diferentes terapias con insulina, las mejoras en el tratamiento de las enfermedades concomitantes, así como el mejor conocimiento de los dueños sobre las necesidades de estos animales. Todo ello ha contribuido notablemente a la reducción de los índices de mortalidad. En general, el pronóstico de perros diabéticos depende en parte del compromiso del propietario para tratar el trastorno, la facilidad de controlar la glucemia y la presencia y reversibilidad de las enfermedades concomitantes así como de las complicaciones crónicas asociadas al disturbio. Los pacientes diabéticos viven un promedio de tres años desde el diagnóstico, aunque los perros diabéticos que sobreviven los primeros seis meses pueden fácilmente vivir más de cinco años con la enfermedad si hay un adecuado cuidado de los propietarios y evaluaciones frecuentes por el veterinario.

Trastornos congénitos en enzimas del metabolismo de los glúcidos

Disturbios de almacenamiento del glucógeno

Se caracterizan por la acumulación exagerada de glucógeno en el hígado y el músculo debido a fallas

enzimáticas en el metabolismo de glucógeno, siendo particularmente importantes en humanos. Por lo general son trastornos hereditarios ligados a genes recesivos. Son conocidos ocho tipos de esos disturbios, de los cuales cuatro han sido descritos en animales. La **Tabla 5.6** muestra los tipos de disturbios del almacenamiento de glucógeno, las enzimas involucradas, los principales signos clínicos y las especies en que han sido reportados.

Anemia hemolítica congénita

La anemia hemolítica congénita es una enfermedad rara en animales y humanos y es debida a un gen homocigótico recesivo que afecta la síntesis de la enzima piruvato quinasa (PK, enzima de la glucólisis) en los reticulocitos, disminuyendo la cantidad de la enzima en los eritrocitos. Los niveles de la enzima en los eritrocitos de los animales afectados son del orden de 5% a 25% de los niveles normales. Como resultado, se produce acumulación de intermediarios de la vía glucolítica, con disminución de la producción de piruvato y lactato, y severa reducción en la producción de ATP. La falta de ATP en el eritrocito afecta la actividad de la bomba NaK ATPasa, necesaria para mantener el equilibrio electrolítico y la forma bicóncava de la célula sanguínea, esencial para el desplazamiento fácil de los eritrocitos a través de los capilares y el intercambio de oxígeno con los tejidos. El metabolismo energético resulta marcadamente perjudicado en animales con deficiencia de piruvato quinasa (PK), haciendo que disminuya la vida media eritrocitaria con consecuentes hemólisis y anemia. Ocurre un efecto compensatorio, en el que se observa a hiperplasia eritroide en la médula ósea seguida de marcada reticulocitosis en la sangre periférica. Esta deficiencia solo se evidencia en los eritrocitos, ya que dependen de la vía glucolítica para obtener ATP. Los niveles de ATP en los reticulocitos son adecuados, puesto que estas células pueden producir ATP por la vía de la fosforilación oxidativa en las mitocondrias.

La anemia hemolítica crónica hace que la absorción intestinal de hierro sea excesiva, acumulándose en el hígado para desarrollar hemosiderosis, hemocromatosis y/o fibrosis. A diferencia de otras especies, los perros con deficiencia de piruvato quinasa evolucionan a progresivas mielofibrosis y osteoclerosis. La osteosclerosis puede diagnosticarse mediante una radiografía de huesos largos en animales con un año de vida, y a los tres años puede obstruir completamente las cavidades medulares. Los animales afectados mueren entre el año y los cinco años de vida debido a la disfunción hepática y medular. El diagnóstico de la enfermedad se realiza entre los cuatro meses y el primer año de vida. Los animales afectados tienen pocos signos clínicos durante el primer año de vida, aunque presentan anemia severa. Los signos clínicos son variables e inespecíficos, puede presentarse letargo, depresión y disminución del apetito. La característica clínica más observada es una anemia hemolítica severa, altamente regenerativa, intolerancia al ejercicio y palidez de mucosas. Los animales pueden presentar taquicardia, soplo sistólico, hepatoesplenomegalia y, raramente, ictericia. Los felinos también presentan anemia hemolítica crónica y esplenomegalia, aunque a diferencia de los perros no evolucionan hacia osteosclerosis. Una forma precoz de identificar el trastorno es comparar el comportamiento entre los cachorros de la misma camada. Muchos animales acaban siendo tratados por otras enfermedades, como hemoparasitosis o anemia hemolítica inmunomediada.

El diagnóstico debe realizarse con base en los signos clínicos, considerando el tipo de nutrición, la existencia de infecciones y el grado de crecimiento, así como otros factores que pueden influir en las vías metabólicas. Tras excluir las causas más comunes de anemia hemolítica, como son la inmunomediada, tóxica o infecciosa, ha de considerarse la posible existencia de una deficiencia de PK. En el hemograma se observa anemia hemolítica regenerativa severa, con un hematocrito que varía del 17% al 28%. La anemia por lo general es macrocítica e hipocrómica, el VCM varía entre 86 y 105 fL y el CHCM entre 25 y 32 g/dL. El recuento de reticulocitos no corregido varía entre el 12% y el 66%, y el corregido entre 0,5 a 1,5 × 10^6/µL. Los valores de hematocrito y reticulocitos disminuyen a medida que la mielofibrosis y la osteosclerosis se vuelven más severas. El recuento de leucocitos puede estar normal o aumentado con neutrofilia madura. El recuento de plaquetas puede ser normal o ligeramente aumentado. También es posible observar policromasia y anisocitosis de moderada a intensa, así como la presencia de eritrocitos inmaduros. En el frotis sanguíneo se pueden apreciar equinocitos, esquistocitos y acantocitos en animales sometidos a una esplenectomía. En la médula ósea se aprecia hiperplasia eritroide con intensa eritrogénesis. La bioquímica sérica muestra pocas alteraciones, siendo lo más relevante la existencia de hiperbilirrubinemia

Tabla 5.6 Tipos de disturbios del almacenamiento de glucógeno

Tipo	Enzima deficitaria	Signos clínicos	Especie
I (Von Gierke)	Glucosa-6-fosforilasa	Hepatomegalia, hipoglucemia	Caninos
II (Pompe)	α-glucosidasa	Hepatomegalia, cardiomegalia, muerte precoz	Bovinos, caninos, codornices
III (Cori)	Enzima desramificante	Hepatomegalia, hipoglucemia, muerte precoz	Perro Pastor Alemán
IV (Andersen)	Enzima desramificante	Similar a tipo III	Solo humano
V (McArdel)	Fosforilasa muscular	Acumulación de glucógeno muscular	Solo humano
VI	Fosforilasa hepática	Acumulación de glucógeno hepático	Solo humano
VII (Tarui)	Fosfofructoquinasa muscular	Acumulación de glucógeno muscular	Solo humano
VIII	Fosforilasa quinasa	Hepatomegalia, hipoglucemia	Rata, ratón

no conjugada, con disminución de la haptoglobina. A nivel radiográfico hay aumento de la densidad ósea, sobre todo en los animales más viejos.

El tratamiento es básicamente sintomático. El uso de corticoesteroides y la esplenectomía parece minimizar los signos clínicos de anemia intermitente. No obstante, varios autores citan que la esplenectomía no se ha mostrado efectiva para disminuir el grado de hemólisis, siendo indicada en animales que tienen crisis frecuentes para minimizar la hemólisis extravascular. Las transfusiones sanguíneas con donadores compatibles son necesarias en casos de que el hematocrito sea menor del 10%. El uso de inmunoglobulina humana intravenosa puede ayudar a estabilizar la anemia hemolítica, puesto que bloquea los receptores Fc de los macrófagos y liga los anticuerpos circulantes, disminuyendo los disturbios inmunohematológicos; sin embargo, no promueve su supervivencia a largo plazo y los tratamientos repetidos pueden ser peligrosos, además de tener un elevado costo. Al tratarse de un trastorno hereditario es fundamental reconocer no solo los animales afectados, sino también los portadores que pueden transmitir el gen mutante. Con este fin se han desarrollado controles bioquímicos y moleculares que detectan la mutación en el gen.

Síndrome de estrés en porcinos

Ocurre en cerdos particularmente susceptibles al estrés, sobre todo cuando son transportados al frigorífico. Los animales presentan fiebre y su carne está pálida, retiene agua y su pH es ácido, conformando la llamada carne PSE (*pale, soft, exudative*). El músculo es el órgano afectado, se vuelve rígido y genera calor y ácido láctico. El problema parece residir en una alteración del control alostérico de las enzimas 6-fosfofructoquinasa y/o fructosa-1,6-difosfatasa que acelera el ciclo fútil que hidroliza ATP con producción de calor:

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi + calor$$

El uso de halotano en humanos produce un efecto similar, causando una 'hipertermia maligna', con dramático aumento de la temperatura corporal, acidosis metabólica y respiratoria, hipercalemia y rigidez muscular. Por ese motivo este trastorno también se conoce como una alteración del 'gen halotano'.

Fructosuria e intolerancia a la fructosa

La fructosa puede suplir el 30% - 60% de las necesidades de glucosa en los animales. Sin embargo, algunas deficiencias genéticas de las enzimas responsables de metabolizar la fructosa pueden causar trastornos metabólicos. La deficiencia de fructoquinasa, primera enzima de la vía de la fructólisis, produce una fructosuria sin más síntomas específicos que los altos niveles de fructosa en la sangre y en la orina después del consumo de este monosacárido. En este caso, el 90% de la fructosa puede ser metabolizada por otras vías. La intolerancia a la fructosa está causada por

la falta de la enzima fructosa-1-fosfato aldolasa, que hace que se acumule fructosa-1-P a nivel intracelular, y se caracteriza por una severa hipoglucemia tras de la ingestión de fructosa.

Galactosemia

Los humanos pueden presentar defectos congénitos que originen una galactosemia hereditaria, por la incapacidad de metabolizar la galactosa, monosacárido derivado de la lactosa. El trastorno podría estar en la enzima galactosa quinasa o en la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (GALT). En el caso de la primera enzima, el trastorno es leve y se caracteriza por la tendencia a formar cataratas. Una falla en la segunda enzima causa un problema mucho más grave, ya que produce retraso en el crecimiento, retraso mental y falla hepática fatal.

5.6 Bibliografía

Appleton, D. J., Rand, J. S., y Sunvold, G. D. (2001). Insulin sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at great risk of glucose intolerance with weight gain. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 3*, 211-228.

Bagley, L. H., y Lavach, J. D. (1994). Comparison of postoperative phacoemulsification results in dogs with and without diabetes mellitus: 153 cases (1991-1992). *JAVMA*, *205*, 1165-1169.

Bailhache, E., Nguyen, P., Krempf, M., Siliart, B., Magot, T., y Ouguerram, K. (2003). Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. *Metabolism, 52*, 559-564.

Beam, S., Correa, M. T., y Davidson, M. G. (1999). A retrospective-cohort study on the development of cataracts in dogs with diabetes mellitus: 200 cases. *Veterinary Ophthalmology*, *2*, 169-172.

Behrend, E. N., y Greco, D. S. (2000). Feline diabetes mellitus: evaluation of treatment. *Compendium*, *22*, 440-450.

Behrend, E. N., y Greco, D. S. (2000). Treatment of feline diabetes mellitus: overview and therapy. *Compendium, 22*, 423-427.

Behrend, E. N. (2002). Diabetes mellitus: an update on oral hypoglycemic agents and monitoring options. *Veterinary Medicine*, october, 743-751.

Bell, G. I., Burant, C. F., Takeda, J., y Gould, G. W. (1993). Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. *J. Biol. Chem, 268*, 19161-19164.

Brennan, C. L., Hoenig, M., y Ferguson, D. C. (2004). GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. *Domestic Animal Endocrinol, 26*, 291-301.

Breukink, H. J. (1991). Abomasal displacement: Etiology, pathogenesis, treatment and prevention. *Bovine Pract., 26*, 148-153.

Cardoso, F. C., Esteves, V. S., Oliveira, S. T., Lasta, C. S., Valle, S. F., Campos, R., y González, F. H. D. (2008). Hematological, biochemical and ruminant parameters for diagnosis of left displacement of the abomasum in dairy cows from Southern Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *43*, 141-147.

Casella, M., Wess, G., Hässig, M., y Reusch, C. E. (2003). Home monitoring of blood glucose concentration by owners of diabetic dogs. *Journal of Small Animal Practice, 44*, 298-305.

Catchpole, B., Ristic, J. M., Fleeman, L. M., y Davison, L. J. (2005). Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? *Diabetologia*, *48*, 1948-1956.

Coppock, C. E., Noller, C. H., Wolfe, S. A., Callahan, C. J., y Baker, J. S. (1972). Effect of forage-concentrate ration in complete feeds fed ad libitum on feed intake prepartum and occurrence of abomasal displacement in dairy cows. *J. Dairy Sci*, *55*, 783-789.

Cox, D. (1999). Pancreatic insulin-secreting neoplasm (insulinoma) in a West Highland White Terrier. *Canadian Veterinary Journal, 40*, 343-345.

Davison, L. J., Ridtic, J. M., Herrtage, M. E., Ramsey, I. K., y Catchpole, B. (2003). Anti-insulin antibodies in dogs with naturally occurring diabetes mellitus. *Veterinary Immunology and Immunopathology, 91*, 53-60.

Duarte, R., Simões, D. M., Franchini, M. L., Marqueze, M. L., e Ikesake, J. H. (2002). Accuracy of serum beta-hydroxybutyrate measurement for diagnosis of diabetic ketoacidosis in 116 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine, 16*, 411-417.

Ettinger, S. J. (1996). Distúrbios do pâncreas endócrino. En S. J. Ettinger, *Manual de Medicina Interna Veterinária* (pp. 621-630). São Paulo, Brasil: Manole.

Ferreira, P. M., Leite, R. C., Carvalho, A. U., Facury, E. J., Souza, R. C., y Ferreira, M. G. (2004). Custo e resultados do tratamento de sequelas de laminite bovina: relato de 112 casos em vacas em lactação no sistema *free-stall*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 56*, 589-594.

Fischer, S. J., Lekas, M. L., Quing, S. Z., Bilinski, D., Carvalho, G., Giacca, A., y Vranic, M. (1997). Insulin-independent acute restoration of euglycemia normalizes the impaired glucose clearance during exercise in diabetic dogs. *Diabetes*, *46*, 1805-1812.

Fleeman, L. M., y Rand, J. S. (2001). Management of canine diabetes. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *31*, 855-879.

Fleeman, L. M., y Rand, J. S. (2003). Evaluation of day-to-day variability of serial blood glucose concentration curves in diabetic dogs. *JAVMA, 222*, 317-321.

Gomes, C., Guimarães, K. M., Pöppl, A. G., Foerstnow, L., Mucillo, M., Muschner, A. C., y Contesini, E. A. (2007). Tratamento cirúrgico de insulinoma em um cão. *Acta Scientiae Veterinariae, 35* (supl. 2), s370-s371.

Good, K. L., Maggs, D. J., Hollingsworth, S. R., Scagliotti, R. H., y Nelson, R. W. (2003). Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus. *American Journal of Veterinary Research, 64*, 7-11.

Graham, P. A., Maskell, I. E., Rawlings, J. M., Nash, A. S., y Markwell, P. J. (2002). Influence of a high fiber diet on glycaemic control and quality of life in dogs with diabetes mellitus. *Journal of Small Animal Practice, 43*, 67-73.

Greco, D. S. (2001). Diagnosis and treatment of juvenile endocrine disorders in puppies and kittens. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 31*, 401-407.

Greco, D. S. (2001). Diagnosis of diabetes mellitus in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 31*, 844-853.

Guptill, L., Glickman, L., y Glickman, N. (2003). Time trends and risk factors for diabetes mellitus in dogs: analysis of veterinary medical data base records. *Veterinary Journal*, *165*, 240-247.

Habel, R. E., y Smith, D. F. (1981). Volvulus of the bovine abomasum and omasum. *JAVMA, 179*, 447-455.

Hers, H. G., y Hue, L. (1983). Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Ann. Rev. Biochem, 52*, 617-653.

Hess, R. B., Kass, P. H., y Ward, C. R. (2000). Breed distribution of dogs with diabetes mellitus admitted to a tertiary care facility. *JAVMA, 216*, 1414-1417.

Hess, R. B., Saunders, H. M., Van Winkle, T. J., y Ward, C. R. (2000). Concurrent disorders in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). *JAVMA, 216*, 1166-1173.

Hess, R. B., y Ward, C. R. (2000). Effect of insulin dosage on glycemic response in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). *JAVMA*, *216*, 217-221.

Hess, R. S., Kass, P. H., y Van Winkle, T. J. (2003). Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine, 17*, 489-494.

Hoenig, M. (2002). Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *197*, 221-229.

Hoenig, M., y Ferguson, D. C. (1999). Diagnostic utility of glycosylated hemoglobin concentration in the cat. *Domestic Animal Endocrinology, 16*, 11-17.

Horn, B., & Mitten, R. W. (2000). Evaluation of an insulin zinc suspension for control of naturally occurring diabetes mellitus in dogs. *Australian Veterinary Journal, 78*, 831-834.

Jeffers, J. G., Shanley, K. J., y Schick, R. O. (1991). Diabetes mellitus induced in a dog after administration of corticosteroids and methylprednisolone pulse therapy. *JAVMA*, *199*, 77-80.

Jensen, A. L. (1995). Gycated blood proteins in canine diabetes mellitus. *Veterinary Record*, *137*, 401-405.

Kaiyala, K. J., Prigeon, R. L., Kahn, S. E., Woods, S. C., y Schwartz, M. W. (2000). Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes*, *49*, 1525-1533.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., y Bruss, M. L. (Eds.) (1997). *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th ed. New York, USA: Academic Press.

Katz, J., y McGarry, J. D. (1984). The glucose paradox. Is glucose a substrate for liver metabolism? *Journal of Clinical Investigation, 74*, 1901-1909.

Kimmel, S. E., Michel, K. E., Hess, R. S., y Ward, C. R. (2000). Effects of insoluble and soluble dietary fiber on glycaemic control in dogs with naturally occurring insulin-dependent diabetes mellitus. *JAVMA, 216*, 1076-1081.

Klinkenberg, H., Sallander, M. H., y Hedhammar, A. (2006). Feeding, exercise and weight identified as risk factors in canine diabetes mellitus. *Journal of Nutrition*, *136*, 1985S-1987S.

Krebs, H. A. (1970). The history of the tricarboxylic acid cycle. *Perspectives in Biology and Medicine*, *14*, 154-170.

Kwang-ho J. (2003). Electroacupuncture and moxibustion for correction of abomasal displacement in dairy cattle. *J. Vet. Sci., 4*, 93-95.

Larsen, T., Moller, G., y Bellio, R. (2001). Evaluation of clinical and clinical chemical parameters in periparturient cows. *J. Dairy Sci., 84*, 1749-1758.

Latimer, K. S., y Mahaffey, E. A. (1984). Neutrophil adherence and movement in poorly and well-controlled diabetic dogs. *American Journal of Veterinary Research, 45*, 1498-1500.

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., y Cox, M. M. (1993). *Principles of biochemistry*. New York, USA: Worth Publishers.

Leifer, C. E., Peterson, M. E., y Matus, R. E. (1986). Insulin-secreting tumor: diagnosis and medical and surgical management in 55 dogs. *JAVMA, 188*, 60-64.

Lienhard, F. E., Slot, J. W., James, D. E., y Mueckler, M. M. (1992). How cells absorb glicose. *Sci. Am., 266*, 86-91.

Loste, A., y Marca, M. C. (1999). Study of the effect of total serum protein and albumin concentrations on canine fructosamine concentration. *Canadian Veterinary Journal*, *63*, 138-141.

Loste, A., y Marca, M. C. (2001). Fructosamine and glycated hemoglobin in the assessment of glycaemic control in dogs. *Veterinary Research, 32*, 55-62.

Martin, G. J., y Rand, J. S. (2000). Current understanding of feline diabetes: part 2. Treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 2*, 3-17.

Martin, G. J., y Rand, J. S. (2001). Pharmacology of a 40 IU/ml porcine lente insulin preparation in diabetic cats: findings during the first week and after 5 or 9 weeks therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 3*, 23-30.

Mattheeuws, D., Rottiers, M. D., Kaneko, J. J., y Vermeulen, M. D. (1984). Diabetes mellitus in dogs: relationship of obesity to glucose tolerance and insulin response. *American Journal of Veterinary Research, 45*, 98-103.

Mazzaferro, E. M., Greco, D. S., Turner, A. S., y Fettman, M. J. (2003). Treatment of feline diabetes mellitus using an alpha-glucosidase inhibitor and a low-carbohydrate diet. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 5*, 183-189.

McArthur, J. M., y Miltimore, J. E. (1961) Rumen gas analysis by gas-solid chromatography. *Canadian Journal of Animal Science, 41*, 187-196.

McGuire, M. C., Schulman, R., Ridgway, M. D., y Bollero, G. (2002). Detection of occult urinary tract infections in dogs with diabetes mellitus. *Journal of the American Animal Hospital Association, 38*, 541-544.

Mitchell, P. (1979). Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science*, *206*, 1148-1159.

Nelson, R. W., Duesberg, C. A., Ford, S. L., Feldman, E. C., Davenport, D. J., Kiernan, C., y Neal, L. (1998). Effect of dietary insoluble fiber on control of glycemia in dogs with naturally acquired diabetes mellitus. *JAVMA*, *212*, 380-386.

Neuvians, T. P., y Berger, M. (2002). Diabetes care in cats and dogs. *Diabetic Medicine*, *19*, 77-79.

Nuttall, F. Q., Gilboe, D. P., Gannon, M. C., Niewoehner, C. B., y Tan, A. W. (1988). Regulation of glycogen synthesis in the liver. *American Journal of Medicine, 85,* supplement 5A, 77-85.

O'Brien, T. D. (2002). Pathogenesis of feline diabetes mellitus. *Molecular and cellular Endocrinology, 197*, 213-219.

Paulson, J. C. (1989). Glycoproteins: what are the sugar chains for? *Trends Biochem. Sci., 14*, 272-276.

Peikes, H., Morris, D. A., y Hess, R. S. (2001). Dermatologic disorders in dogs with diabetes mellitus: 45 cases (1986-2000). *JAVMA*, *219*, 203-208.

Pilkis, S. J., El-Maghrabi, M. R., y Claus, T. H. (1988). Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Ann. Rev. Biochem. 57*, 755-783.

Pöppl, A. G. & Gonzalez, F. H. D. (2005). Aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais da diabetes mellitus em cães. *Acta Scientiae Veterinariae, 33*, 33-40.

Pöppl, A. G., y González, F. H. D. (2006). Avaliação clínico-laboratorial de uma preparação de insulina suína lenta no controle de cães diabéticos. *Acta Scientiae Veterinariae, 34*, 125-135.

Rand, J. S., Fleeman, L. M., Farrow, H. A., Appleton, D. J., y Lederer, R. (2004). Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture? *Journal of Nutrition, 134*, 2072S-2080S.

Rand, J. S., y Martin, G. J. (2001). Management of feline diabetes mellitus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 31*, 881-914.

Remillard R. L. (1999). Nutritional management of diabetic dogs. *Compendium, 21*, 699-713.

Toth, B., Bollen, M., y Stalmans, W. (1988). Acute regulation of hepatic phosphatases by glucagon, insulin, and glucose. *J. Biol. Chem., 263*, 14061-14066.

Winden, S. C., y Kuiper, R. (2003). Left displacement of the abomasum in dairy cattle: recent developments in epidemiological and etiological aspects. *Vet. Res., 34*, 47-56.

Capítulo 6
Bioquímica clínica de minerales

Adicionales a las biomoléculas orgánicas los tejidos animales poseen elementos inorgánicos que hacen parte de su estructura y se encuentran en una proporción de 2% a 5% del peso total del animal. En esos elementos los minerales desempeñan funciones esenciales, tanto en la estructura de tejidos y biomoléculas como en el propio metabolismo animal, al participar como cofactores enzimáticos, activadores de la acción hormonal y responsables de la presión osmótica y el equilibrio ácido-básico.

6.1 Clasificación y funciones de los minerales

Los minerales pueden ser divididos en:

(a) Macrominerales, los presentes con mayor concentración en el organismo animal y cuyos requerimientos se expresan en porcentaje: calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg), sodio (Na), cloro (Cl), potasio (K) y azufre (S). Las principales funciones de los macrominerales se indican en la **Tabla 6.1**.

(b) Microminerales u oligoelementos, aquellos que están en concentraciones menores, cuyos requerimientos se expresan en partes por millón (ppm), entre los cuales están: cobre (Cu), zinc (Zn), yodo (I), selenio (Se), hierro (Fe), cobalto (Co), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y flúor (F). Las principales funciones de los microminerales se señalan en la **Tabla 6.2.**

Se consideran minerales esenciales para los animales el calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio, cloro, azufre, yodo, hierro, cobre, cobalto, manganeso, zinc, selenio, molibdeno, cromo, estroncio, vanadio, níquel y silicio. De esos elementos, no son esenciales para las plantas calcio, yodo, cobalto, selenio y cromo; existen, con frecuencia, deficiencias de ellos en la alimentación basada en pastos. Los requerimientos medios en la alimentación, la concentración plasmática y las fuentes de los principales minerales se muestran en la **Tabla 6.3**. Las deficiencias más frecuentes de macrominerales en los animales son las de fósforo y sodio, sobre todo en los animales mantenidos con pasto; la deficiencia de calcio, aunque menos frecuente, cobra importancia en los bovinos de leche y, en menor escala, en cerdos, aves y caninos. Con relación a los oligoelementos, las deficiencias más observadas son las de cobre, cobalto y zinc, seguidas de hierro, selenio y yodo; no obstante, en cuanto a los grados de deficiencia, estos varían bastante, desde estados carenciales leves o subclínicos que afectan principalmente la productividad y la fertilidad, hasta estados graves con signos clínicos específicos. La deficiencia de fósforo es el disturbio mineral más común y económicamente más importante en bovinos mantenidos en régimen de campo, debido a las múltiples funciones que este mineral desempeña en el organismo y a la deficiencia generalizada en suelos y forrajes, además del elevado costo de su suplementación.

Animales herbívoros encuentran en las plantas un factor limitante para el surgimiento de carencias, ya que la composición mineral de los vegetales está influenciada por el clima, siendo necesaria la evaluación de su concentración en diferentes estaciones del año para tener una estimación de la real composición. Características propias de las regiones tropicales, como lluvias fuertes y altas temperaturas, perjudican la absorción mineral por parte de los vegetales; los animales criados en estas regiones se tornan susceptibles a deficiencias minerales, comprometiendo su desarrollo y su desempeño productivo. Deficiencias severas, acompañadas por altas tasas de mortalidad, así como las carencias subclínicas, pueden llevar a pérdidas relevantes en la productividad.

Bajos niveles de minerales en los pastos no siempre se reflejan en los animales, y lo que se observa son deficiencias marginales, con signos subclínicos, difíciles de ser identificadas. El agua también presenta muchos elementos esenciales en cantidades bastante variadas, de forma que el conocimiento de su composición mineral también es importante.

Tabla 6.1 Composición porcentual y funciones metabólicas de los macrominerales

Mineral	Composición (%)	Funciones más importantes
Calcio	1-2	Mineralización ósea, regulación metabólica, coagulación sanguínea, contracción muscular, transmisión nerviosa.
Fósforo	0,7-1,2	Mineralización ósea, componente de DNA y RNA, composición de compuestos de alta energía, regulación de enzimas, componente de fosfolípidos.
Potasio	0,3	Regulación de la presión osmótica, transmisión nerviosa, regulación ácido-básica, contracción muscular, control hídrico.
Azufre	0,25	Componente de aminoácidos sulfurados, de biotina y tiamina, de mucopolisacáridos, reacciones de desintoxicación.
Sodio	0,15	Regulación de la presión osmótica, transmisión nerviosa, regulación ácido-básica, contracción muscular, control hídrico.
Cloro	0,15	Regulación de la presión osmótica, regulación ácido-básica, control hídrico, formación de HCl en el jugo gástrico.
Magnesio	0,04	Cofactor de más de trescientas enzimas, componente de huesos, actividad neuromuscular.

Tabla 6.2 Composición y funciones metabólicas de los microminerales

Mineral	Composición (ppm)	Funciones más importantes
Hierro	80	Transporte y almacenamiento de oxígeno (hemoglobina, mioglobina), transporte de electrones, componente de enzimas.
Zinc	30	Cofactor de más de setenta enzimas, expresión génica, estabilidad de las membranas, síntesis de proteínas.
Cobre	3,0	Cofactor de muchas enzimas que participan en reacciones de óxido-reducción.
Yodo	0,4	Componente de las hormonas tiroidianas.
Manganeso	0,3	Cofactor de enzimas, activador enzimático.
Cobalto	0,2	Componente de la vitamina B_{12}.
Molibdeno	0,07	Cofactor de enzimas.
Selenio	0,02	Componente de enzimas.

6.2 Macroelementos

Calcio

La mayoría del calcio (98 %) es componente principal de los huesos. La composición mineral de los huesos es 75 % de fosfato tricálcico (hidroxiapatita), 10 % de carbonato de calcio y los 15 % restantes contienen citrato de calcio, pirofosfato de calcio, carbonato de magnesio, fosfato de magnesio, fosfato disódico, cloruro de potasio, fluoruros y trazos de estroncio, bario y plomo. Aunque más del 90 % de calcio del organismo está en el esqueleto como depósito en la forma de fosfato de calcio, el restante tiene muchas funciones vitales, encontrándose en los fluidos corporales en su forma ionizada (Ca^{2+}). Aproximadamente la mitad del calcio plasmático está en la forma ionizada, fisiológicamente activa, mientras que la otra mitad está en forma no ionizada unido a proteínas, sobre todo a albúmina. Menor concentración de proteínas plasmáticas lleva a disminución aparente del nivel de calcio en la sangre. Una parte del calcio sanguíneo se encuentra también unida a aniones, como fosfato y citrato.

Tabla 6.3 Concentración plasmática promedio, requerimientos promedios en la alimentación y fuentes de minerales

Mineral	Concentración plasmática	Requerimientos (en materia seca)	Fuentes
Calcio	8,7-11 mg/dL	0,4-0,9%	Leche, leguminosas, harinas de pescado, carne y hueso, fosfato bicálcico.
Fósforo	4,0-8,0 mg/dL	0,4-0,7%	Leche, cereales, harinas de pescado, carne y hueso, fosfato monosódico.
Magnesio	1,8-3,5 mg/dL	0,03-0,04%	Trigo, levaduras, tortas de algodón y linaza, trébol, harina de huesos, óxido de Mg.
Sodio	137-148 meq/L	0,6-1%	Productos de origen animal principalmente marinos, sal común.
Potasio	3,8-5,2 meq/L	0,5-0,8%	Cloruro de K, bicarbonato de K, yoduro de K.
Cloro	97-107 meq/L	0,1%	Harinas de pescado y carne, sal común.
Hierro	57-233 µg/dL	150-200 ppm	Leguminosas, semillas, harinas de sangre e hígado.
Cobre	60-200 µg/dL	15-30 ppm	Semillas, pastos, harinas de sangre e hígado.
Zinc	70-150 µg/dL	10-20 ppm	Levaduras, cereales, harinas de soya y algodón.
Cobalto	10-30 ng/dL	0,2-0,3 ppm	Pastos, sulfato de Co, cloruro de Co, carbonato de Co.
Manganeso	50-100 ng/dL	5-10 ppm	Pastos, trigo, harina de carne, sulfato de Mn.
Selenio	0,2-7,0 µg/dL	0,05 ppm	Selenito y selenato de Na, selenato de Ba.
Yodo	10-40 µg/dL	0,03-0,05 ppm	Yoduro de K (en la sal).
Molibdeno	0,2 µg/dL	1-4 ppm	Soya

El nivel de referencia de calcio en la sangre es de 2,2 a 2,6 mmol/L (8,8 a 10,4 mg/dL), siendo su homeostasia controlada hormonalmente. Participan la hormona de la paratiroides (PTH), la calcitonina (CT) de la tiroides y el 1,25-dihidroxi-colecalciferol (DHCC), producto del metabolismo de la vitamina D. De modo general, mientras que la PTH y el DHCC aumentan los niveles de calcio sanguíneo, la CT los reduce.

Funciones del calcio

(a) El calcio forma parte de la matriz ósea del esqueleto, donde se encuentra en dos formas: cristalina, como fosfato de calcio, similar a hidroxiapatita, y no cristalina, amorfa, importante durante el crecimiento del hueso. El calcio del hueso mantiene una condición dinámica, es permanentemente reciclado y sirve como depósito, a partir del cual puede ser extraído para mantener la homeostasis del calcio. Cerca del 15% de la proteína no colagenosa del hueso es osteocalcina, proteína que se une al calcio, contiene residuos de γ-carboxiglutamato y está aparentemente relacionada con los procesos de calcificación del hueso.

(b) El calcio es factor esencial en el proceso de la coagulación sanguínea, activa algunas proteasas o zimógenos. Los zimógenos de la coagulación sanguínea (factores II, VII, IX y X) tienen como característica importante la presencia de residuos de γ-carboxiglutamato, los cuales contienen dos grupos carboxilo (COO^-) que sirven para que el Ca^{2+} se una en el proceso de la activación enzimática. Esos zimógenos forman el γ-carboxiglutamato a partir de residuos de glutamato contenidos en su estructura. En este proceso es necesaria la vitamina K, que actúa como cofactor de la enzima carboxilasa. El calcio puede también actuar directamente como factor para activar los factores V y XI, que también son proteasas del proceso de la coagulación.

(c) El calcio participa en el proceso de la contracción muscular, siendo su papel básico unirse a la troponina c. El calcio se libera en el citosol de la célula muscular a partir del retículo sarcoplasmático, como consecuencia de una onda estimulatoria nerviosa causante de despolarizar la fibra muscular. La unión del calcio a la troponina c induce un cambio conformacional en esta proteína al permitir la salida de la tropomiosina,

proteína que en ausencia de calcio bloquea la formación de un puente entre la miosina y la actina, necesaria para la contracción. La energía para la contracción muscular es suministrada por la acción ATPasa de la miosina, la cual es regulada por el calcio y la actina. En el músculo liso el calcio actúa mediante otro mecanismo, pues en este tipo de músculo la troponina está ausente. La contracción en ese tejido se inicia de la misma forma con aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular, pero es regulada en dos niveles: un nivel envuelve la quinasa de la cadena leve de la miosina (MLCK), cuya actividad está modulada por el nivel de Ca^{2+}, esta enzima fosforila la subunidad leve de la miosina para provocar la interacción miosina-actina y, por tanto, la contracción muscular; otro nivel de control envuelve la adrenalina, que induce la fosforilación de la MLCK, inactivando esta enzima e inhibiendo, por consiguiente, la fosforilación de la miosina y la contracción muscular.

(d) El calcio actúa en la transmisión del impulso nervioso. Cuando ocurre el potencial de acción, o sea la variación en la conductividad eléctrica debido a la despolarización de la membrana, ocurre entrada de Na^+ al interior de la célula. El calcio extracelular favorece el paso de los iones de Na^+ mediante la regulación del umbral con el cual se obtiene un aumento de la conductividad del ion Na^+. La conducción nerviosa también requiere una concentración de Ca^{2+} intracelular del orden de 0,3 M. El Ca^{2+} entra quizás aprovechando los canales para Na^+, siendo después expulsado a cambio del mismo Na^+.

(e) El calcio regula la acción de algunas enzimas usando la calmodulina como mediador. La calmodulina es una proteína ubicua de 148 aminoácidos rica en residuos de glutamato y aspartato, cuyos grupos COO^- sirven para unirse al Ca^{2+} en cuatro sitios. La concentración de Ca^{2+} intracelular es 10^3 a 10^4 veces menor que la concentración extracelular; de ese modo, cualquier aumento en los niveles intracelulares de calcio se torna en señal para modificar la acción de algunas enzimas. El mecanismo de acción del calcio sobre la regulación de enzimas calcio-dependientes comprende dos activaciones sucesivas: primero, cuando la concentración de calcio intracelular alcanza determinado umbral el calcio se une a la calmodulina, modificando su estructura y volviéndola activa; después, el complejo calcio-calmodulina interactúa con la enzima para activarla. Las dos reacciones de activación son reversibles. De esa forma, cuando la estimulación termina los niveles de calcio caen a su nivel basal, separándose de la calmodulina y causando la inhibición de la enzima. Entre las enzimas calcio-dependientes más conocidas están: fosfodiesterasa, adenilciclasa, fosforilasa-quinasa, glucógeno-sintetasa quinasa, fosfolipasa A_2 y ATPasa.

(f) El calcio sirve de segundo mensajero en la acción de varias hormonas, entre ellas catecolaminas, vasopresina, angiotensina, GnRH, glucagón y prostaglandinas. Esas hormonas causan mayor concentración de calcio intracelular, el cual actúa como señal iniciadora de algunas reacciones enzimáticas. En la mayoría de los casos el aumento de la concentración de calcio intracelular está asociado con la hidrólisis del fosfatidil-inositol, lípido componente de la membrana plasmática, que genera diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (ITP), los cuales contribuyen a la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplasmático para el citosol. Una visión más detallada del papel del calcio en la regulación hormonal se encuentra en el capítulo de bioquímica hormonal (**Figuras 7.3 a 7.5**).

Control hormonal de la homeostasis del calcio

El calcio, principalmente, y en menor grado el fósforo, poseen un riguroso control endocrino que permite la homeostasis ante desequilibrios entre la ingestión y la demanda de esos minerales. Las acciones de las hormonas participantes en el proceso se muestran en la **Figura 6.1** y en la **Tabla 6.4**.

Hormona de la paratiroides

Las glándulas paratiroides no fueron descritas en los primeros atlas de anatomía, debido a su tamaño y localización.

Las glándulas paratiroides, por lo general en número de cuatro, están localizadas en la parte anterior a la tiroides, dos en cada lado, y se hallan asociadas al timo. Poseen dos tipos de células: las células principales, que secretan PTH, y las células oxifílicas, de mayor tamaño que las principales y con mayor capacidad oxidativa e hidrolítica, que parecen derivar de células principales viejas. La PTH es un polipéptido de cadena simple con peso molecular de 9.500 Da. Tiene 84 aminoácidos y su actividad biológica está limitada a los últimos 34 aminoácidos aminoterminales. La PTH se secreta como un precursor mayor llamado pre-proPTH de 115 aminoácidos, el cual va al retículo endoplasmático,

donde algunas peptidasas lo convierten en proPTH, de 90 residuos, por segmentación proteolítica en el extremo aminoterminal. El proPTH viaja por los canales del retículo endoplasmático hasta el complejo de Golgi, donde otra peptidasa remueve seis aminoácidos del extremo aminoterminal, y la PTH resultante es incorporada a los gránulos secretores. Cuando hay disminución del calcio plasmático los gránulos son transportados hasta la membrana plasmática, secretándose PTH. Por lo menos 50% de la hormona producida es degradada por los lisosomas de la misma célula paratiroidiana. La tasa de degradación de la PTH en las células principales es menor cuando el calcio plasmático disminuye.

La vida media plasmática de la PTH es de dieciocho-veinte minutos. Las células principales de la paratiroides almacenan pocas cantidades de PTH, pero son capaces de responder a variaciones del calcio sanguíneo con alteración rápida de las tasas de síntesis, degradación y secreción. Los gránulos secretores de las células principales de la paratiroides contienen, además de la PTH, una proteína paratiroidiana secretora (PSP) que parece funcionar como proteína de unión, de forma similar a las neurofisinas, que unen oxitocina y vasopresina. La PSP es una proteína de peso molecular 70.000 Da con dos subunidades y acompaña a la PTH dentro de la vía de transporte intracelular. Los gránulos secretores dejan las células principales por exocitosis.

La PTH es la principal hormona que actúa en la regulación del calcio sanguíneo. Los órganos-blanco de la PTH son los túbulos renales y el hueso. El efecto biológico inmediato de la PTH es elevar el nivel de calcio y disminuir el nivel de fósforo en la sangre. En el riñón causa incremento de la excreción de fósforo debido a la disminución de su reabsorción en los túbulos proximales. Simultáneamente, aumenta la reabsorción de calcio en los túbulos distales. La PTH también incrementa la excreción urinaria de K^+, HCO_3^-, Na^+, cAMP y aminoácidos, al tiempo que disminuye la excreción de H^+, Mg^+ y NH_3. La PTH además actúa aumentando la formación de 1,25-dihidroxi-colecalciferol (DHCC) en el riñón mediante la estimulación de la enzima 1α-hidroxilasa, localizada en las mitocondrias de las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales. Esta enzima hidroxila el 25-hidroxi-colecalciferol (25-HCC) para formar el metabolito activo 1,25-DHCC, el cual incrementa la movilización de calcio del hueso y la absorción de calcio y fósforo en la región gastrointestinal.

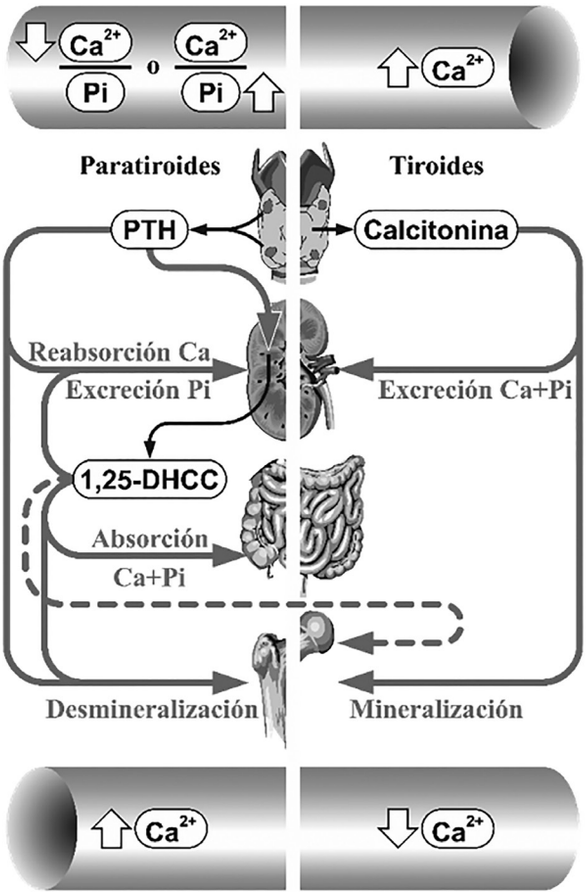


Figura 6.1. Control endocrino de la calcemia y la fosfatemia

Cuando ocurre disminución de la relación $Ca2^+$/Pi, como en la hipocalcemia o en la hiperfosfatemia (mitad izquierda de la figura) hay estímulo de la paratiroides con liberación de la parthormona (PTH). La PTH actúa directamente sobre el riñón, aumentando la reabsorción renal de $Ca2^+$ y la excreción de Pi. Sobre el tejido óseo la PTH actúa incrementando su desmineralización con liberación de $Ca2^+$ en circulación. La PTH también actúa estimulando la producción renal de 1,25-DHCC (vitamina D3 o calcitriol, Figura 6.2). El efecto más relevante de la 1,25-DHCC es el de estimular la absorción de calcio y fósforo en el intestino; secundariamente, estimula la reabsorción renal de $Ca2^+$ y la desmineralización ósea. Las acciones conjuntas de PTH y 1,25-DHCC aumentan la calcemia, equilibrando la relación $Ca2^+$/Pi. Solo en animales jóvenes la 1,25-DHCC tiene efecto estimulante de la mineralización ósea (línea punteada). En la hipercalcemia (mitad derecha de la figura) hay estímulo en las células parafoliculares de la tiroides con liberación de calcitonina, la cual aumenta la excreción renal del $Ca2^+$ y del Pi. La calcitonina también estimula la mineralización ósea, reduciendo los niveles séricos de $Ca2^+$. Las flechas negras representan la liberación de la hormona, mientras que las acciones hormonales están representadas por flechas grisáceas. 1,25-DHCC, 1,25-di-hidroxicolecalciferol; Pi, fosfato inorgánico.

Tabla 6.4 Acciones biológicas de las hormonas reguladoras de la homeostasis del calcio y del fósforo

Hormona	Concentración sanguínea		Reabsorción renal	Resorción ósea	Absorción intestinal
	Ca	P			
PTH	↑	↓	↑ Ca, ↓ P*	↑	↑ Ca, ↑ P**
Calcitonina	↓	↓	↓ Ca, ↓ P	↓	sin efecto
Vitamina D	↑	↑	↑ Ca, ↑ P	↓	↑ Ca, ↑ P

* Por aumento de excreción. ** Indirectamente, vía vitamina D

Sobre el hueso la PTH ejerce cuatro acciones principales: (a) inhibe la síntesis de colágeno en los osteoblastos; (b) aumenta la desmineralización ósea por los osteocitos (osteólisis osteocítica); (c) aumenta la osteólisis osteoclástica; y (d) aumenta la tasa de maduración de las células precursoras para dar osteoblastos y osteoclastos. Como consecuencia de todos esos efectos, hay disminución en la capacidad del hueso para captar calcio y ocurre una desmineralización (resorción) de los huesos, aumentando la liberación de calcio del hueso con pérdida de los proteoglicanos de la matriz ósea debido a una alta actividad colagenolítica. El mecanismo de acción de la PTH sobre los túbulos renales y las células óseas se da a través del cAMP. El aumento de este nucleótido en el túbulo renal favorece los mecanismos de reabsorción de calcio y desfavorece la reabsorción de fósforo. En la célula ósea el aumento de cAMP causa la síntesis y liberación de enzimas lisosomales que llevan a la resorción ósea.

El efecto de la PTH sobre el control del calcio sanguíneo se ejerce en dos niveles: (a) un primer nivel de respuesta rápida implica el 'bombeo' de calcio osteocito-osteoblasto, que resulta en el flujo incrementado de Ca^{2+} desde lo más profundo del hueso hasta la superficie ósea, mediante la acción coordinada de osteocitos y osteoblastos inactivos; este primer nivel también incluye la respuesta sobre la reabsorción de Ca^{2+} en los túbulos renales; (b) en el segundo nivel, más lento aunque de mayor potencial, ocurre osteólisis osteoclástica, e indirectamente, a través del incremento del 1,25-DHCC, mayor absorción intestinal de calcio. Este doble control es similar a lo que ocurre con el control de la glucemia: el primer nivel, rápido, representado por la glucogenólisis, y el segundo nivel, lento pero a largo plazo, representado por la gluconeogénesis. El control de la secreción de la PTH está regulado por los niveles plasmáticos de calcio mediante *feedback* negativo, o sea, un aumento en la concentración de calcio sanguíneo inhibe la adenilciclasa en la membrana de la célula paratiroidiana, lo que disminuye la secreción de PTH, mientras que una disminución de los niveles de calcio sanguíneo está asociada con mayor concentración de cAMP en esas células, lo que promueve la liberación de PTH. Altos niveles de 1,25-DHCC también ejercen efecto inhibitorio sobre la secreción de PTH.

La concentración de fósforo sanguíneo no tiene influencia reguladora directa sobre la síntesis y secreción de PTH. No obstante, una hiperfosfatemia puede estimular indirectamente la paratiroides debido a su efecto reductor del calcio sanguíneo. El ion Mg^{+} tiene efecto similar al del Ca^{2+} sobre la secreción de PTH, aunque de forma mucho menos potente, por lo cual se considera que el magnesio tiene una función secundaria en el control paratiroidiano.

Calcitonina

Las células C o parafoliculares están situadas entre las células foliculares de la tiroides, inmediatamente abajo de su membrana basal o en pequeños grupos entre los folículos tiroidianos, y están caracterizadas por poseer muchos gránulos secretores donde se encuentra la calcitonina. La polaridad secretora de las células C se dirige a los capilares interfoliculares en vez del lumen del folículo.

La calcitonina (CT) es una cadena polipeptídica simple de peso molecular de 3.500 Da con 32 aminoácidos y tiene una vida media de dos a quince minutos. Se sintetiza como un precursor glucoproteico que es sometido a la acción de sucesivas peptidasas

hasta resultar en la calcitonina. El producto inicial de la traducción es la pre-proCT (peso molecular 17.400 Da) en el retículo endoplasmático rugoso; de allí es transportada al aparato de Golgi, donde se convierte en proCT y después en CT, antes de ser envuelta por los gránulos de secreción. La estructura de la CT difiere considerablemente entre especies, aunque el extremo aminoterminal es similar en todas. La CT disminuye los niveles de calcio y fosfato inorgánico por la acción sobre los huesos fundamentalmente, aunque tenga también alguna incidencia en la función renal. En el hueso la CT inhibe la desmineralización ósea, mientras que en el riñón disminuye la reabsorción de calcio y fósforo en los túbulos. La CT no tiene efecto sobre la absorción de calcio en el intestino. La acción de la CT es mediada, en parte, por el cAMP. La CT tiene receptores en los osteoclastos, en las células renales y en los linfocitos. Esta hormona bloquea la osteólisis osteoclástica. Es difícil establecer de qué manera, teniendo las mismas células-blanco de la PTH, pueda tener efectos opuestos. La explicación más plausible es que las dos hormonas interactúen sobre distintas subpoblaciones de osteoclastos. Los receptores para CT, en el riñón, están localizados en la porción ascendente del asa de Henle y en el túbulo contorneado distal. La CT favorece la excreción no solo de Ca^{2+} y Pi, sino también de Na^{+} y Cl^{-}. Sobre el fosfato inorgánico la CT tiene efecto sinérgico con la PTH, o sea que aumenta su excreción a nivel renal. Sobre la resorción ósea las dos hormonas tienen acción antagónica. La acción de la CT no depende de la vitamina D, pues actúa en animales con deficiencia de esta vitamina.

La CT parece funcionar como una hormona de emergencia para: (a) evitar hipercalcemia durante la rápida absorción posprandial de calcio, y (b) proteger contra la pérdida excesiva de calcio y fósforo en el esqueleto materno durante la gestación. Algunas hormonas gastrointestinales, como gastrina, colecistoquinina (CCK) y además el glucagón, estimulan la secreción de CT como mecanismo protector de la hipercalcemia ante una alimentación rica en calcio. La secreción de CT parece ser continua a concentraciones fisiológicas de calcio plasmático, aunque ante una elevación de calcio aumenta su secreción y ante una disminución de él la disminuye, o sea, el control secretor es por *feedback* positivo, opuesto a la PTH.

La somatostatina ha sido encontrada en la tiroides, siendo posible que actúe como control paracrino para inhibir la secreción de CT. A pesar de las acciones biológicas establecidas para la CT, la tiroidectomía no provoca mayores anormalidades en la homeostasis del calcio, a diferencia de lo que ocurre con la paratiroidectomía.

Los trastornos de las células parafoliculares son menos frecuentes que los trastornos de la paratiroides. Fue reportada la presentación de hipercalcitonismo en humanos y en toros debido a neoplasias de las células parafoliculares, aparentemente por causas hereditarias. Las vacas no desarrollan lesiones proliferativas bajo condiciones alimentarias altas en calcio, como los toros, tal vez por el alto gasto de calcio durante la gestación y la lactación. En animales tiroidectomizados puede ser observado hipocalcitonismo. Aunque no se observen problemas clínicos definidos en esos animales, ellos pueden no manejar eficientemente una alta carga de calcio y presentar hipercalcemia.

Vitamina D

La vitamina D es una vitamina liposoluble químicamente similar a los esteroides, aunque con el anillo B abierto entre las posiciones 9 y 10. La forma natural de la vitamina D es el colecalciferol, formado en la piel por reacción no enzimática a partir del precursor esteroidal 7-deshidrocolesterol, debido a la acción de la luz ultravioleta (**Figura 6.2**). En las plantas, a partir de la radiación UVB solar (λ= 280-315 nm) sobre el ergosterol, se forma ergocalciferol, que solo difiere con relación al colecalciferol en un doble enlace en el C-21. El ergocalciferol, o vitamina D_2, también es precursor del colecalciferol. La vitamina D_2 no es biológicamente activa, ya que para eso debe pasar por dos hidroxilaciones secuenciales, primero en la posición 25 mediante acción de una 25-hidroxilasa presente en el hígado, y después en la posición 1 por una 1α-hidroxilasa presente en el riñón. El producto final activo es el 1,25-dihidroxi-colecalciferol (1,25-DHCC). Una proteína transportadora de la vitamina D (DBP) lleva el colecalciferol por la sangre desde su lugar de síntesis, en la piel, hasta el hígado. La exposición excesiva al sol provoca la conversión fotoquímica del precursor del colecalciferol en lumisterol y taquisterol, isómeros que no son afines por la DBP y permanecen en la piel, perdiéndose después en la metabolización.

La vitamina D se considera una hormona por las siguientes razones: (a) su estructura química es parecida a la de las hormonas esteroides; (b) es

activa en pequeñas cantidades (del orden de ng); (c) es sintetizada por un órgano (la piel) a partir de precursores (7-deshidrocolesterol); (d) es transportada por la sangre para actuar en órganos-blanco (intestino, hueso, riñón); (e) modifica la acción fisiológica de las células-blanco; (f) su mecanismo de acción es similar al de las hormonas esteroides; (g) es tóxica en cantidades excesivas.

La formación de 1,25-DHCC está regulada por mecanismos *feedback* que envuelven calcio, fósforo inorgánico y PTH, siendo el principal punto de control la 1α-hidroxilación del 25-HCC en el riñón. La 25-hidroxilación del colecalciferol se realiza en las células del hígado, en el retículo endoplasmático, por una monoxigenasa citocromo P450 llamada colecalciferol 25-hidroxilasa, que requiere NADPH, O_2 y Mg^{2+}. El 25-HCC formado en la anterior reacción es transportado por una globulina plasmática hasta el riñón, donde una enzima mitocondrial de los túbulos contorneados proximales, la 25-HCC-1α-hidroxilasa, produce el 1,25-DHCC, hormona activa. Los niveles circulantes de 25-HCC sirven como reserva de vitamina D precursora. La 1α-hidroxilasa también es citocromo P450 oxigenasa conteniendo un núcleo ferrosulfurado (ferredoxina) y requiere NADPH y O_2. El sustrato de esta reacción debe estar 25-hidroxilado. El 1,25-DHCC ejerce inhibición por *feedback* sobre la 1α-hidroxilasa del riñón. Otra enzima del riñón puede hidroxilar el 25-HCC en la posición 24, formando el 24,25-dihidroxicolecalciferol (24,25-DHCC), compuesto inactivo, cuando la actividad de la 1α-hidroxilasa está reducida, o sea, cuando hay niveles plasmáticos normales de calcio y fósforo.

La vida media del 1,25-DHCC es de veinticuatro horas, siendo excretado principalmente por la bilis. Cuando hay bajos niveles de calcio plasmático el nivel del 1,25-DHCC aumenta, mientras que el de 24,25-DHCC disminuye. Lo opuesto ocurre con niveles altos de calcio. No obstante, la estimulación de la 1α-hidroxilasa es a través de la PTH y no directamente por los niveles de calcio sanguíneo. A su vez, la disminución de los niveles de fósforo estimula de modo directo la 1α-hidroxilación, mientras que el exceso la inhibe. Otras hormonas que pueden estimular la 1α-hidroxilasa incluyen la prolactina, los estrógenos, el cortisol y la GH. Esos controles tienen que ver con estados fisiológicos como lactación, gestación y crecimiento.

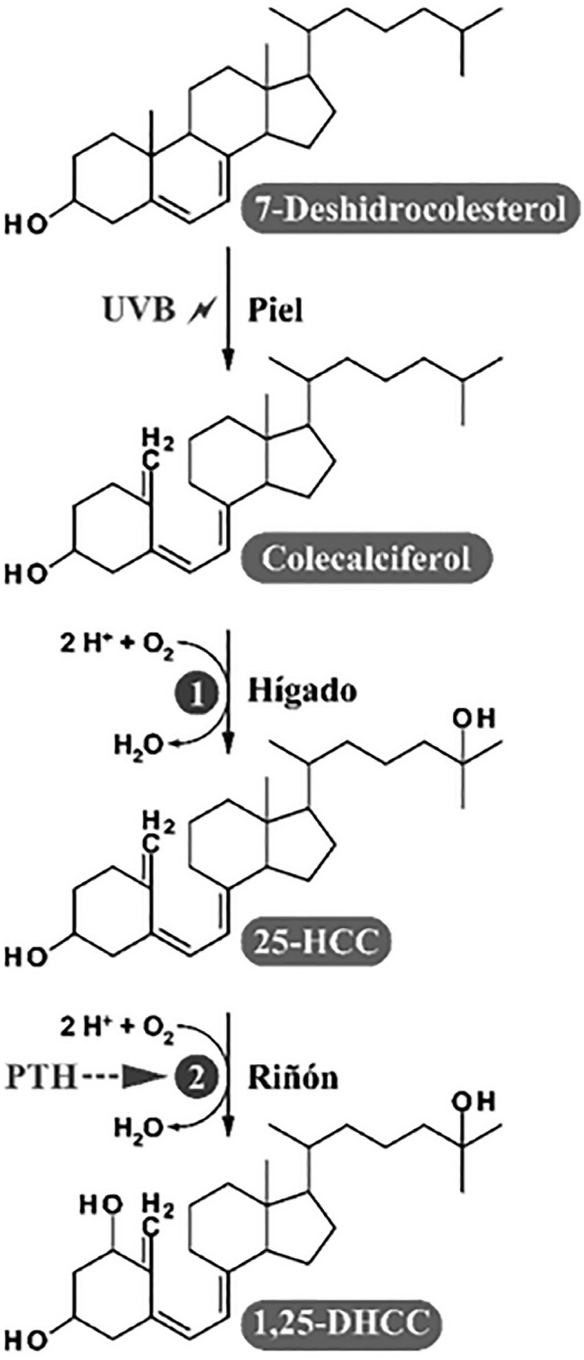


Figura 6.2. Biosíntesis del 1,25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol o vitamina D3)

El efecto activador de la parathormona (PTH) sobre la 25-HCC 1α-hidroxilasa está indicado por flecha punteada. (Consultar la Figura 4.15B para la ruta biosintética del 7-deshidrocolesterol). Las enzimas participantes son: [1] colecalciferol 25-hidroxilasa y [2] 25-HCC 1α-hidroxilasa; 25-HCC, 25-hidroxicolecalciferol; 1,25-DHCC, 1,25-dihidroxicolecalciferol; UVB, radiación ultravioleta de longitud de onda variando de 280 a 315 nm.

Después de su síntesis en el riñón el 1,25-DHCC es transportado por la DBP a las células-blanco. Los niveles circulantes de esta hormona por lo general son muy bajos. El 1,25-DHCC mantiene normales los niveles sanguíneos de calcio y fósforo, actúa en el intestino y los huesos, y quizás en el riñón. En el intestino el 1,25-DHCC estimula la absorción de calcio y fósforo consumidos en la dieta a través de las células epiteliales mediante mecanismos de transporte activo. En los huesos sus efectos son similares a la PTH, movilizando calcio y fósforo de la matriz ósea y de la fracción mineral a través de un efecto osteolítico. Aparentemente la hormona requiere la presencia de PTH para actuar en el hueso (efecto permisivo). Como su acción es bloqueada por la actinomicina D, se cree que la transcripción para formar mRNA y sintetizar proteína es un requerimiento que permita poder causar su efecto. En el riñón el 1,25-DHCC disminuye la excreción renal de calcio y fósforo.

El 1,25-DHCC también estimula la mineralización o calcificación de los huesos en animales jóvenes por mecanismos aún no esclarecidos. Los animales jóvenes con deficiencia de vitamina D o mantenidos sin luz solar desarrollan raquitismo debido a que al no ocurrir la normal mineralización de la matriz cartilaginosa el hueso se debilita y deforma por la acumulación de matriz cartilaginosa en las epífisis. La administración de colecalciferol, 25-HCC o 1,25-DHCC restablece la calcificación normal en la placa de crecimiento. En el raquitismo dependiente de vitamina D, trastorno genético causado por la alteración de un gen autosómico recesivo, observado en cerdos y humanos, ocurre falla en la síntesis de la enzima 1α-hidroxilasa, lo cual no permite sintetizar 1,25-DHCC aunque el organismo tenga las moléculas precursoras.

El 1,25-DHCC actúa en receptores citosólicos, activándolos y desplazándolos al núcleo, donde actúan sobre otro receptor en la cromatina para provocar biosíntesis de mRNA y de dos proteínas específicas, la ATPasa y la proteína transportadora de calcio (CaBP), esta última asociada con la absorción intestinal de calcio. La CaBP ha sido aislada de intestino delgado, riñón, paratiroides, hueso, glándula mamaria y glándula de la cáscara en la gallina.

La hipervitaminosis D puede causar calcificación ectópica a consecuencia de aumentar la desmineralización ósea. Los huesos se vuelven frágiles y susceptibles de fracturas. Se observa hipercalcemia e hipercalcinuria, aunque con concentraciones normales de fósforo. Los efectos de la hipervitaminosis D son debidos al 25-HCC, pues el 1,25-DHCC está regulado de forma rigurosa, a menos que sea directamente administrado en el organismo vía parenteral.

Trastornos en el metabolismo del calcio

Trastornos en la función de la paratiroides

Los trastornos funcionales de la paratiroides incluyen el hiper- y el hipoparatiroidismo, en los cuales se secretan cantidades anormales de PTH que causan trastornos en la homeostasis del calcio y el fósforo, y en la mineralización ósea. El hiperparatiroidismo puede ser primario o secundario, y este a su vez de origen renal o nutricional.

Hiperparatiroidismo primario

En el hiperparatiroidismo primario ocurre lesión funcional en la glándula paratiroides que causa una secreción continua de PTH a pesar del aumento de calcio sanguíneo. La acción prolongada de la PTH sobre el hueso causa desmineralización ósea osteocítica y osteoclástica. El calcio es removido de los huesos y sustituido por tejido conectivo fibroso, causando osteodistrofia fibrosa. La lesión primaria en la paratiroides puede ser un adenocarcinoma, frecuente en perros y en gatos viejos. También puede ser debida a una hiperplasia de las células principales o a un defecto heredado causado por una mutación genética en el gen del receptor de Ca^{2+} en la glándula, como ha sido descrito en perros de raza Pastor Alemán. El hiperparatiroidismo primario es un trastorno bastante infrecuente en medicina veterinaria y más raro en gatos que en perros; los perros de la raza Keeshound parecen estar predispuestos a él, diagnosticándose en animales de edad madura y avanzada. La hiperplasia primaria de paratiroides también se ha descrito en cachorros de Pastor Alemán. Los animales afectados presentan debilitamiento óseo con tendencia a fracturas, especialmente en los huesos largos, aflojamiento o pérdida de los dientes, disfunción motora por desmineralización de las vértebras y fracturas de compresión, cojeras y apatía. La hipercalcemia puede causar debilitamiento muscular por disminución de la excitabilidad neuromuscular, cálculos renales debidos a mineralización de los túbulos renales, depresión, anorexia, vómito y constipación. Valores

de calcio sanguíneo por encima de 14 mg/dL pueden ser considerados hipercalcémicos.

El exceso de PTH también puede ocasionar hipofosfatemia (valor de fósforo sanguíneo menor que 4 mg/dL) debido al aumento de la excreción renal de fósforo. Por lo general la fosfatasa alcalina está elevada en esos casos, a consecuencia de la actividad compensatoria osteoblástica como respuesta a la tensión mecánica ejercida por los huesos debilitados por la desmineralización excesiva. Asociada a estas alteraciones, la PTH aumentada o dentro de un umbral normal alto es compatible con el diagnóstico de hiperparatiroidismo primario. Los animales con azotemia representan un desafío diagnóstico porque la combinación de hipercalcemia, hiperfosfatemia y PTH elevada son comunes tanto al hiperparatiroidismo primario como al hiperparatiroidismo secundario renal. Exámenes de rutina como radiografías torácicas y ecografías abdominales están indicadas en la investigación preliminar inicial. La ultrasonografía de la región del cuello constituye una óptima herramienta para localizar el origen del problema y la evaluación general de la glándula paratiroides. La localización previa de la paratiroides afectada es de gran ayuda en el proceso operatorio, pero si esto no es posible se puede explorar quirúrgicamente la región cervical a fin de identificar tejido paratiroideo anormal.

En los felinos el hallazgo más común es la anorexia, y la paratiroides es palpable en hasta el 40 % de los casos. En perros no es posible palpar masas cervicales; cualquier masa palpable probablemente se trata de tumores de otros orígenes, o incluso linfonodos. Las infecciones del tracto urinario son muy comunes (cerca del 25 % de los casos) como consecuencia de la formación de urolitiasis. La deshidratación asociada con debilitamiento muscular generalizado, poliuria y polidipsia, vómitos y anorexia, pueden estar presentes. No obstante, los pacientes no presentan signos clínicos y se debe realizar un cuidadoso y completo examen físico, incluyendo la palpación ano-rectal (carcinoma perianal) y de linfonodos periféricos (linfoma) para establecer un diagnóstico diferencial de hipercalcemia.

El tratamiento consiste en extirpar quirúrgicamente la neoplasia. En la cirugía se debe retirar toda glándula aumentada de tamaño, pero considerando que las glándulas no afectadas se atrofian. En los casos en que fue confirmado el hiperparatiroidismo, y las cuatro glándulas están aumentadas de volumen, configurando una hiperplasia de paratiroides, se deben retirar de dos a tres glándulas. En los perros se han aplicado con éxito técnicas de ablación química (etanol) o física (calor por radiofrecuencia) guiadas por ultrasonido. Se requiere monitorizar al paciente en el posoperatorio ya que se puede desarrollar una hipocalcemia que comprometa su vida en caso de que las glándulas remanentes no sean capaces de reasumir su función a consecuencia de la atrofia. En este sentido, es fundamental la medición diaria del calcio sanguíneo durante un mínimo de tres días con el objetivo de detectar en forma precoz la presentación de hipocalcemia y, eventualmente, tratar al animal. Esta complicación es más frecuente en pacientes que tenían calcemias mayores de 14 mg/dL antes de la cirugía. En la mayoría de los casos el hipoparatiroidismo posoperatorio es transitorio y el tratamiento puede ser gradualmente interrumpido a lo largo de algunas semanas. La administración de calcio antes del desarrollo de signos clínicos inhibe el estímulo para que la glándula pueda revertir la atrofia y de esta forma se inhibe la secreción de PTH. Lo ideal es la administración de metabolitos de la vitamina D, los cuales necesitan de tres a siete días para obtener un efecto máximo antes de la reducción de la calcemia, o incluso uno a dos días antes de la cirugía. Este protocolo ayuda a prevenir la presentación de tetania, que puede ser fatal. El objetivo es mantener el calcio próximo al límite inferior de la normalidad, sirviendo como estímulo para que la glándula paratiroides se torne funcional nuevamente, permitiendo la retirada gradual de la medicación en seis a ocho semanas. En perros y gatos la recidiva después de la cirugía no es común.

Hiperparatiroidismo secundario renal

Las condiciones patológicas caracterizadas como hiperparatiroidismo secundario reflejan situaciones en las que inicialmente la glándula paratiroides está reaccionando de forma normal ante desequilibrios en la concentración de calcio, fósforo o vitamina D; no obstante, la exposición crónica a estos desequilibrios acaba generando un cuadro de hiperparatiroidismo.

El hiperparatiroidismo secundario renal, observado sobre todo en perros y gatos viejos, es secundario a una insuficiencia renal crónica. Debido a la insuficiencia renal ocurre retención excesiva de fósforo con la consecuente hiperfosfatemia, y como consecuencia de disminución en sangre de la relación Ca/P (función del alto nivel de fósforo) se estimula la secreción de PTH. En un primer estadio el elevado fósforo sanguíneo deprime

la actividad de la 1α-hidroxilasa del riñón, disminuyendo así la producción de 1,25DHCC. Posteriormente el daño renal también afecta en forma directa la producción de esta vitamina. La falta de 1,25DHCC provoca un estímulo directo en la paratiroides para aumentar la secreción de PTH y una disminución en la absorción intestinal de calcio que lleva a hipocalcemia, estimulando aún más la respuesta de la paratiroides para secretar PTH. La situación de hipocalcemia se ve agravada por el hecho de que la alta concentración de fósforo causa menor cantidad de calcio sanguíneo por el aumento de su excreción.

En el hiperparatiroidismo secundario ocurre aumento del tamaño de la glándula paratiroides y los signos clínicos son similares a los del hiperparatiroidismo primario. Los valores de calcio en la sangre pueden estar normales. La administración oral de bajas dosis de vitamina D_3 (1,7-3,4 mg/kg peso) para minimizar la falla en la absorción intestinal de calcio ayuda a normalizar los valores de PTH en perros y gatos, reduciendo la progresión del trastorno.

Hiperparatiroidismo secundario nutricional

El hiperparatiroidismo secundario nutricional es un mecanismo compensatorio en respuesta a desequilibrios minerales crónicos causados por dietas que pueden tener exceso de fósforo con calcio normal, bajo contenido de calcio o deficiencia de vitamina D_3. El resultado de dichas dietas es una disminución de la relación Ca/P en la sangre que lleva a una estimulación prolongada de la glándula paratiroides. En respuesta a la hipocalcemia de origen nutricional, ocurre hipertrofia e hiperplasia de las células principales de la paratiroides. La hipocalcemia debida a una dieta baja en calcio es fácil de entender, pues los requerimientos nutricionales no son cubiertos. En el caso de la ingestión excesiva de fósforo ocurre aumento de la absorción intestinal de este mineral e hiperfosfatemia concomitante con una inhibición de la absorción intestinal de calcio, debida a la formación de complejos Ca:P. La hiperfosfatemia no estimula la glándula paratiroides directa sino indirectamente, por su efecto de disminuir el calcio sanguíneo mediante aumento de la excreción renal de calcio cuando la sangre se satura con estos dos iones. El efecto de la falta de vitamina D provoca disminución de la absorción intestinal de calcio y la consecuente hipocalcemia. Este trastorno es frecuente en gatos y perros jóvenes alimentados con dieta predominante de carne o hígado, tejidos que tienen bajo contenido de calcio (8 mg%) y alto de fósforo (relación Ca:P de 1:20 a 1:50). Es frecuente también observar el problema en animales de zoológico, especialmente en felinos enjaulados, así como en caballos alimentados con granos ricos en fósforo (trigo, cebada) y forraje de mala calidad, en ocasiones agravado por el consumo de pastos ricos en oxalatos, que forman complejos insolubles con calcio e impiden su absorción intestinal. Los primeros signos clínicos revelan trastornos en la locomoción, apatía, cojera y dolor óseo a la palpación, causados por la progresiva disminución del córtex de los huesos largos en función de la desmineralización prolongada. Los cachorros de gato son más susceptibles al problema que los adultos, por presentar un metabolismo óseo más rápido. En caballos, en casos avanzados, además de cojera se observa osteodistrofia fibrosa o hiperostosis, que se manifiesta en una deformación de la mandíbula.

Hipoparatiroidismo

El hipoparatiroidismo es un trastorno raro que se aprecia en perros de razas pequeñas (Schnauzer, Terrier) y en gatos. Se caracteriza por la baja secreción de PTH o por falla de esta hormona para interactuar con sus células-blanco. En la etiología de este trastorno aparecen causas congénitas (agenesia), idiopáticas (asociadas con parotiditis linfocítica difusa), iatrogénicas (cirugías de la tiroides, irradiación), metabólicas (falla para producir cAMP en las células-blanco) y neoplasias. Clínicamente se observa incremento de la excitabilidad neuromuscular y tetania. Los niveles de calcio pueden disminuir por debajo de 6 mg/dL. Los niveles de fósforo aumentan debido a la mayor reabsorción tubular. Aunque rara, se ha descrito una enfermedad hereditaria conocida como pseudohipoparatiroidismo en la cual ocurre hipocalcemia e hiperfosfatemia. En este trastorno los niveles de PTH son normales o elevados, pero ocurre resistencia de las células-blanco a la acción hormonal, posiblemente por falla en la adenilciclasa y, por tanto, en la síntesis de cAMP, a través del cual actúa la PTH.

Hipocalcemia puerperal (fiebre de leche)

Este trastorno es también comúnmente conocido como hipocalcemia del posparto, paresia puerperal, paresia obstétrica, fiebre vitular o fiebre de leche. Estas últimas denominaciones populares son incorrectas, puesto que en el cuadro clínico no se observa fiebre, sino al contrario, hipotermia. Presenta mayor incidencia

en bovinos, aunque además puede afectar a ovinos, caprinos y equinos. La paresia puerperal es un trastorno metabólico agudo caracterizado por hipocalcemia y parálisis que se presenta en el período de la lactación, sobre todo en la primera semana del posparto, por lo general en vacas de alta producción de leche. Los niveles de calcio pueden caer a menos de 5 mg/dL y la vaca puede presentar cuadro comatoso con decúbito. Es más común en vacas viejas y en algunas razas, como la Jersey, las cuales son más susceptibles que otras.

Etiología de la hipocalcemia puerperal

La causa de la hipocalcemia es compleja. De forma simplista, parece una falla de la homeostasis del calcio al inicio de la lactación. En el desencadenamiento del trastorno están involucrados el estrés del parto y la ruptura del régimen normal de alimentación, así como el comienzo de la secreción de leche. Por cada 10 kg de calostro que una vaca produce pierde 23 g de calcio, lo cual representa nueve veces la cantidad de calcio presente en el *pool* plasmático, cantidad que puede doblarse en vacas de alta producción. La mayoría de las vacas se adaptan a ese nuevo desafío metabólico, pero del 5 % al 20 % de los animales no se adaptan y pueden desarrollar este proceso. Inicialmente se propuso que la hipocalcemia ocurría por una respuesta inadecuada de la paratiroides a la demanda incrementada de calcio, representada por la formación de los huesos fetales y el inicio de la lactación; sin embargo, estudios posteriores revelaron que los niveles de PTH en vacas hipocalcémicas después del parto eran normales e incluso mayores que en las vacas normocalcémicas. El problema entonces parece estar en la falta de respuesta de las células-blanco del hueso a altos niveles de PTH, de forma que la desmineralización ósea disminuye significativamente en vacas con hipocalcemia puerperal. La fuerte caída de los valores séricos de calcio, por debajo de 7,0 mg/dL, es el factor responsable de la patogenia. La calcemia baja como consecuencia directa de un desequilibrio entre la salida de calcio en la leche y los mecanismos que mantienen la calcemia. Lo más común es que el cuadro clínico ocurra en vacas de segunda a quinta lactación en las primeras 72 h después del parto. La situación puede agravarse si en el período preparto se suministró calcio.

Tres son los factores desencadenantes de la paresia: (a) la pérdida de calcio en la leche por encima de la capacidad de absorción en el intestino y de la movilización ósea del mineral; (b) un trastorno intestinal que comprometa la absorción de calcio, y (c) la falta de movilización de calcio óseo. Como factores predisponentes de hipocalcemia puerperal están: edad (la calcemia tiende a disminuir con los años), nivel de producción, raza, estrés del parto, cambios del medio ambiente, aporte de calcio antes del parto, disfunción paratiroidea, anorexia y desequilibrio ácido-básico en el preparto o al inicio de la lactación (dietas alcalogénicas ricas en potasio favorecen el trastorno). No se ha encontrado relación entre parto distócico e hipocalcemia.

Factores de riesgo de la hipocalcemia puerperal

El nivel crítico de calcio sanguíneo es de 6,5 mg/dL. Se considera que este nivel es incompatible con la motilidad normal del tracto gastrointestinal, lo que puede exacerbar la hipocalcemia o causar otros problemas metabólicos. Cuando la concentración de calcio sanguíneo llega a ser menor de 4,5 mg/dL aparecen los signos clínicos de fiebre de la leche. El ajuste del metabolismo al balance negativo de calcio al inicio de la lactación se logra aumentando la absorción intestinal de calcio y la remoción de calcio de los huesos. No obstante, varios factores pueden afectar negativamente esta capacidad de ajuste, entre los que figuran:

(a) Producción de leche: las vacas de carne o de leche con baja producción raramente sufren hipocalcemia del posparto; sin embargo, la producción no es factor *sine qua non* para su presentación, pues muchas vacas de alta producción no sufren el problema.

(b) Edad: con los años disminuye el intercambio de calcio en los huesos, así como la capacidad de absorción de calcio del intestino, haciendo que las vacas más viejas sean más susceptibles a sufrir el problema, de manera que las novillas casi nunca presentan hipocalcemia.

(c) Consumo de calcio antes del parto: las vacas que reciben dietas altas en calcio al final de la gestación estimulan la síntesis de calcitonina, hormona que mantiene alerta los mecanismos para evitar la hipercalcemia pero inhibe los mecanismos que previenen contra la hipocalcemia. Este factor puede contribuir a la baja capacidad de los niveles aumentados de PTH para movilizar calcio de las reservas óseas con

la rapidez necesaria después del parto. Se considera que vacas que consuman más de 100 g de calcio/día durante el período seco presentan mayor incidencia de fiebre de la leche (el requerimiento de calcio por una vaca seca de 500 kg es de 31 g/día).

(d) Estasis alimentaria debida al estrés del parto: una interrupción del flujo alimentario, por menor que sea, puede llevar a hipocalcemia clínica. La hipocalcemia, a su vez, induce y mantiene la estasis alimentaria, entrando así en un círculo vicioso que solo puede ser quebrado con la administración endovenosa de borogluconato de calcio para aumentar los niveles de calcio sanguíneo. La alimentación con ensilado o concentrados predispone a la estasis alimentaria, mientras que los forrajes fibrosos y el heno son beneficiosos para la función alimenticia.

(e) Desequilibrios alimentarios: dietas consideradas alcalinas, esto es, con exceso de cationes (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}) predisponen a la hipocalcemia. Dietas ricas en fósforo (mayor que 80 g/día) también tienen el mismo efecto. Esto ocurre porque la alta concentración de fósforo sanguíneo inhibe la enzima 1α-hidroxilasa, disminuyendo la producción de 1,25-DHCC y, por tanto, aminorando la absorción intestinal de calcio. Dietas deficientes en magnesio causan inhibición de la movilización de calcio por efecto directo sobre el metabolismo de los huesos, interfiriendo con la absorción intestinal de calcio y estimulando la secreción de calcitonina.

(f) Raza: vacas Jersey son más susceptibles que vacas Holstein, probablemente por la menor concentración de receptores para 1,25-DHCC en las células epiteliales del intestino. A pesar de haber reincidencia de casos en las lactaciones subsecuentes, la hipocalcemia presenta baja heredabilidad (6% a 12%).

La integridad de la interacción entre la PTH y su receptor es vital para la homeostasis del calcio. La hipomagnesemia puede interferir en esa interacción una vez que el magnesio actúa como cofactor de un importante segundo mensajero intracelular de la PTH. Concentraciones de magnesio menores que 1,5 mg/dL aumentan el riesgo de hipocalcemia. El mantenimiento del nivel normal de magnesio sérico es dependiente de un influjo constante de magnesio en la dieta. Altos niveles de potasio pueden perjudicar la absorción de magnesio; por tanto, los niveles de suministro de magnesio en la dieta deben estar entre 3-4 g/kg como seguridad contra posibles alteraciones en la absorción normal de magnesio. La hipomagnesemia es fácilmente controlada con la suplementación de niveles adecuados y disponibles de magnesio en la dieta.

Signos clínicos de la hipocalcemia puerperal

La hipocalcemia produce, inicialmente, hipersensibilidad de los nervios conductores y los músculos, causando hiperexcitabilidad y tetania; en este estadio la temperatura corporal es normal. Luego viene un estadio considerado prodrómico del trastorno, caracterizado por anorexia, agalactia, estasis ruminal, que puede causar timpanismo, mientras que la temperatura permanece normal. En los estadios finales acontece decúbito esternal por parálisis muscular con temperatura por debajo de lo normal y pulso débil. La parálisis muscular puede ser explicada porque la hipocalcemia afecta la diferencia de potencial eléctrico de las células, causa aumento de la permeabilidad celular a cationes y hace que el K^+ salga y el Na^+ entre en la célula. En estadios avanzados del disturbio el animal entra en decúbito lateral, coma y flacidez total de los miembros. Esto puede acontecer por escape de K^+ de las células, llevando a degeneración y necrosis de las fibras musculares, lo cual explicaría por qué hay vacas que no responden al tratamiento con calcio. El cuadro puede complicarse aún más cuando ocurre hipomagnesemia o hígado graso. Con bajos niveles séricos de calcio el animal exhibe pérdida del tono muscular, lo que lleva a parálisis flácida, hipotermia y depresión nerviosa. Los signos más comunes son decúbito lateral, parálisis muscular, especialmente en los miembros posteriores, en la musculatura abdominal, en los músculos intercostales y en el cuello. Es típica la posición de la cabeza inclinada sobre el dorso (posición de 'autoauscultación'). También se observa bradicardia, hipotensión, reflejo palpebral positivo, coma, pérdida de la conciencia, necrosis muscular, pérdida del apetito, estasis ruminal que puede causar timpanismo, bruxismo, relajamiento de esfínteres, resecamiento del globo ocular y parálisis lingual; una caída brusca del potasio muscular podría explicar la parálisis. Se sugirió que la hipocalcemia aumenta la permeabilidad de las membranas celulares permitiendo la salida de potasio del músculo, proceso que reduce la diferencia de potencial a través de la membrana celular y que tendría un efecto paralizante muscular.

Diagnóstico de la hipocalcemia puerperal

Con base en los signos clínicos, la anamnesis del parto, el nivel de producción de leche, la edad y la concentración de calcio en sangre, se establece el diagnóstico de la paresia puerperal. La hipocalcemia por lo general cursa con hipofosfatemia e hipomagnesemia concomitante. Si el cuadro clínico se mantiene por 48 o más horas el pronóstico es desfavorable, debido al grave daño muscular producto de la necrosis; esta situación se caracteriza por valores plasmáticos elevados de las enzimas creatina quinasa (CK) y aspartato transaminasa (AST), los cuales indicarán que el animal difícilmente se recuperará. El trastorno es agudo y letal en caso de que no sea corregido el déficit de calcio. En algunos casos la hipocalcemia puede venir acompañada de ruptura de tendones, fracturas pélvicas, hematomas y traumatismos mamarios, como consecuencia de las frecuentes caídas que sufre el animal. Es necesario un diagnóstico diferencial con cetosis, desnutrición, osteomalacia, parálisis traumáticas o nerviosas, coma hepático, endometritis séptica, linfosarcoma, miopatía degenerativa, mastitis aguda o gangrenosa y tripanosomiasis.

Tratamiento de la hipocalcemia puerperal

Del 75% al 85% de los casos de fiebre de la leche responden al tratamiento tradicional; sin embargo, un 15% a 25% de las vacas pueden no responder, o complicarse con otros trastornos. La determinación de enzimas de evaluación muscular (CK, AST) y de potasio en el plasma es útil para evaluar la extensión de la lesión muscular y precisar el pronóstico. El tratamiento consiste en la inyección endovenosa de 400 a 800 mL (1-2 mL/kg peso) de una solución al 25% de borogluconato de calcio. Se recomienda aplicar la solución a temperatura corporal y de forma lenta, debido al riesgo de choque circulatorio por tetanización del músculo cardiaco. En casos de procesos prolongados deben aplicarse suplementos energéticos (dextrosa) y antioxidantes (vitamina E, selenio) para neutralizar la necrosis muscular y compensar las necesidades metabólicas.

La prevención de fiebre de la leche se ha mejorado con la utilización de dietas bajas en calcio por lo menos dos semanas antes del parto (menor que 20 g Ca/día) y/o suplementos de vitamina D (600 mg de 1,25DHCC) 24-48 h antes del parto, lo que ha disminuido la incidencia del disturbio. Las vacas con dietas bajas en calcio en el preparto presentan mayores niveles de PTH, dejándolas menos susceptibles a la disminución de absorción intestinal de calcio, resultante de la anorexia y la estasis intestinal asociadas al parto; no obstante, en la práctica con los alimentos utilizados normalmente resulta difícil limitar la ingestión de calcio. Una alternativa ha sido alterar la relación de consumo Ca/P a 1 o menos mediante la adición de fosfato de sodio en la dieta. Una alternativa preventiva son las dietas con alto contenido de aniones o 'dietas aniónicas', suministradas en el preparto, las cuales tienden a inducir una acidosis metabólica leve con el resultado de poder aumentar los niveles plasmáticos de 1,25DHCC, activando la absorción intestinal de calcio, estimulando la desmineralización ósea y consiguiendo disminuir la incidencia de fiebre de la leche. La desmineralización ósea está estimulada en la acidosis debido al intento del hueso de neutralizar el pH sanguíneo mediante la salida de carbonato de calcio. Para calcular el balance iónico se considera que una dieta en que la suma de [(Na + K) - Cl] sea menor de 100 mEq/kg MS resulta útil para prevenir la fiebre de la leche. En la práctica es difícil encontrar alimentos con ese sumatorio aniónico, de forma que lo mejor es acidificar la dieta con la adición de sulfatos y cloruros de amonio, calcio o magnesio. Diversos estudios muestran que diferencias catión-anión de la dieta (DCAD) del orden de −100 a −200 mEq/kg MS en las últimas cuatro semanas de gestación no solo reducen la incidencia de hipocalcemia clínica y subclínica, sino que también aminoran problemas de edema de la ubre y aumentan la producción de leche hasta en 8%.

Un buen indicativo del funcionamiento de las dietas aniónicas es la comprobación del pH urinario 48 horas luego del cambio de suplemento. Si el pH está en torno de 5,5 a 6,5 indica acidificación adecuada del pH sanguíneo; sin embargo, si es mayor que 7,0 indica que no hay acidificación, con riesgo de desarrollar el trastorno. Excepto potasio y cloro, los componentes minerales de la dieta son más o menos fijos, debido al estrecho margen de requerimiento; por tanto, la clave para el ajuste de la DCAD es mantener el nivel de potasio lo más próximo posible del requerimiento para vacas secas (10 g/kg) y, para compensar los efectos del potasio, que aun en niveles bajos puede inducir alcalinización sanguínea, es preciso adicionar aproximadamente 5 g/kg de cloro menos que de potasio; ejemplificando, si el requerimiento de la vaca es de 13 g/kg de potasio lo ideal es suministrar 8 g/kg de cloro a fin de alcanzar la DCAD ideal para prevenir la hipocalcemia.

Hipocalcemia puerperal subclínica

La incidencia de hipocalcemia puerperal en su forma subclínica puede llegar al 50 %, teniendo una disminución de los niveles plasmáticos de calcio total por debajo de 2,18 mmol/L (8,7 mg/dL) durante las ocho primeras semanas de lactación. Diversos estudios demuestran que el 33 % de las vacas estudiadas presentan disminución en los niveles plasmáticos de calcio por debajo de 1,9 mmol/L (7,6 mg/dL) durante las primeras seis semanas posparto. También se ha demostrado que los animales con hipocalcemia subclínica producen 5 % a 10 % menos leche en comparación con animales sanos. La hipocalcemia subclínica está asociada con otras enfermedades del posparto, provocando pérdidas económicas mayores. La disminución de los niveles de calcio sanguíneo causa hipomotilidad ruminal que afecta de modo significativo la ingestión de materia seca, lleva al desarrollo de trastornos digestivos y metabólicos, y agudiza el balance energético negativo. De igual forma, ocurre menor contracción de la musculatura lisa del esfínter del pezón, reflejado en el aumento de la ocurrencia de mastitis, en especial de tipo ambiental. Los problemas de distocia e infecciones uterinas son otras manifestaciones comunes con este trastorno. Algunos autores demostraron que en la hipocalcemia subclínica hay aumento de los niveles sanguíneos de glucocorticoides y menor secreción de insulina, lo cual se refleja en inhibición del sistema inmune y menor capacidad de las células para captar glucosa. Con la menor captación de glucosa por parte de las células ocurre mayor movilización de grasa corporal, llevando a la presentación de lipidosis hepática y cetosis. Esto es particularmente grave en la hipocalcemia subclínica, pues la vaca puede permanecer en este estado por un tiempo prolongado, afectando de forma significativa la eficiencia reproductiva y la producción de leche del rebaño. Las pérdidas económicas causadas por la hipocalcemia son muy elevadas y no fácilmente mensurables dado su amplio reflejo sobre la presentación de varias enfermedades en el periparto.

Eclampsia puerperal

También conocida como tetania puerperal, esta patología se observa en yeguas, cerdas y perras, siendo rara en vacas. Se clasifica como una toxicosis de origen puerperal, aunque su presentación pueda ocurrir desde algunos días antes hasta tres semanas después del parto. En caninos es más frecuente en razas pequeñas y excitables como Chihuahua, Poodle Toy y Terrier, a pesar de haber sido descrita también en perras de razas mayores e incluso en gatas.

Etiología

Es posible que el cuadro clínico agrupe más de un agente etiológico, entre los que se menciona desequilibrio iónico a nivel intra- y extracelular. La hipomagnesemia y la hipocalcemia son responsables del cuadro clínico. No hay evidencia para considerar que la tetania puerperal en las especies en las cuales ocurre sea un trastorno relacionado con la secreción de PTH, pues varios trabajos describen que los niveles de esta hormona pueden estar normales o incluso aumentados en respuesta a la hipocalcemia.

La tetania puerperal refleja depleción de calcio ionizado en el compartimiento extracelular. Los factores predisponentes son nutrición inadecuada en el período del periparto, suplementación de calcio impropia y demandas lactacionales intensas. Pequeñas perras con grandes camadas están en mayor riesgo. Una excesiva suplementación prenatal con calcio puede llevar al desarrollo de tetania puerperal, al promover la atrofia de las glándulas paratiroides e inhibir la liberación de la PTH y estimular la liberación de calcitonina, interfiriendo así con los mecanismos normales para las movilización de las reservas adecuadas de calcio, y con la utilización de las fuentes de calcio presentes en los alimentos. El uso de raciones comerciales con fórmulas balanceadas para crecimiento, sin suplementación vitamínica o mineral, es ideal durante la segunda mitad de la gestación y en el transcurso de toda la lactación. Condiciones metabólicas que favorecen la unión del calcio sérico a proteínas pueden promover hipocalcemia, por ejemplo la alcalosis resultante de la taquipnea durante el trabajo de parto o en distocia. Dietas ricas en fósforo pueden aumentar la incidencia de eclampsia, ya que altas concentraciones de fósforo en la sangre inhiben la acción de la 1α-hidroxilasa, enzima renal que torna activa la vitamina D.

Signos clínicos de la eclampsia puerperal

La eclampsia cursa con tetania y convulsiones. La presentación del evento de tetania puede durar desde pocos minutos hasta dos horas. Los animales sufren

pérdida de la consciencia y exhiben fuerte contracción de los músculos cervicales, de la cabeza y de las extremidades. Ocurre copiosa salivación y bruxismo, nistagmo continuo y excitación permanente. El pulso en la fase inicial es normal, evolucionando hacia un pulso débil. El problema es frecuente en yeguas de razas de trabajo. En cerdas está asociado al síndrome MMA (mastitis-metritis-agalactia). En la perra el curso clínico de la eclampsia es rápido, con un máximo de doce horas entre la aparición de los signos clínicos y el desarrollo de la tetania. Signos premonitorios incluyen intranquilidad, jadeo excesivo y comportamiento excitable. En pocas horas los signos pueden progresar a temblores, ataxia, tetania muscular y convulsiones. La hipertermia presente (temperatura hasta 42 °C) está asociada al aumento de la actividad muscular. En la eclampsia también pueden ser vistos signos iniciales como alteración comportamental, irritabilidad, agresividad y cuidados maternos insatisfactorios, desorientación, salivación y prurito facial. La intensidad de los signos varía entre los individuos dependiendo del grado de hipocalcemia. Como los iones de calcio son esenciales para la contracción del miocardio, concentraciones bajas del mineral (menor que 40 % de los valores de referencia) pueden resultar en reducción de la contractibilidad del miocardio, bradicardia y disminución de la presión arterial.

Los disturbios funcionales asociados a la hipocalcemia en la perra son el resultado de una tetania neuromuscular aumentada, en contraste con los observados en la vaca, donde hay paresia muscular. La ocurrencia de tetania o paresia en respuesta a la hipocalcemia parece ser resultado de diferencias fisiológicas entre la perra y la vaca en la función de la unión neuromuscular. En vacas la liberación de acetilcolina y la transmisión de los impulsos nerviosos son bloqueadas por la hipocalcemia, lo que lleva a la paresia muscular, lo cual no ocurre en las perras, ya que el umbral de potencial de calcio para la despolarización es mayor y la acción excitación-secreción es mantenida en la unión neuromuscular. Los hallazgos bioquímicos sanguíneos incluyen hipofosfatemia, hipocalcemia, hipomagnesemia, hipoglucemia y valores elevados de CK, los dos últimos como resultado de la intensa actividad muscular asociada a la tetania.

Cuando la concentración de iones de calcio del líquido extracelular disminuye debajo de lo normal el sistema nervioso se vuelve progresivamente más excitable, pues la reducción del calcio provoca aumento de permeabilidad de la membrana neuronal al ion sodio, permitiendo el inicio fácil de los potenciales de acción. Con concentraciones plasmáticas de iones calcio cerca del 50 % debajo de lo normal las fibras nerviosas periféricas se vuelven tan excitables que comienzan espontáneamente a iniciar impulsos nerviosos dirigidos a los músculos esqueléticos periféricos, provocando concentraciones musculares tetánicas. En general ocurre tetania cuando la concentración sanguínea de calcio cae de su nivel normal (10 mg/dL) a cerca de 6,0 mg/dL, siendo una baja letal cuando alcanza 4,0 mg/dL. La tetania ocurre como resultado de cargas repetitivas espontáneas sobre las fibras nerviosas motoras. Debido a la hipocalcemia las membranas nerviosas se vuelven más permeables a iones, entre ellos el Mg^{2+}, requiriendo un estímulo de menor intensidad para la despolarización.

Diagnóstico de la eclampsia puerperal

El diagnóstico de eclampsia se establece con base en los signos clínicos consistentes de una hembra en lactación, y en el llamado diagnóstico terapéutico. El diagnóstico diferencial incluye hipoglucemia, intoxicaciones y disturbios neurológicos como epilepsia o meningoencefalitis idiopática. Otras causas de irritabilidad e hipertermia posparto, como metritis o mastitis, deben ser excluidas.

Rutinariamente el calcio es evaluado por medio de la determinación de calcio sérico total, pero solo la medición del calcio ionizado puede dar una evaluación precisa de la fracción del calcio biológicamente activo. Varios factores pueden influenciar la proporción de la fracción de calcio ionizado, entre ellos la concentración de albúmina, el pH de la sangre y la temperatura corporal. En la acidosis aumenta la concentración del ion por haber disminución de la unión calcio-albúmina, mientras que en la alcalosis aumenta esta unión, con consecuente disminución de calcio iónico fisiológicamente activo. Factores que pueden afectar la concentración de albúmina o el valor del pH no tienen influencia cuando se analiza la medición de calcio iónico en vez de calcio total. En la tentativa de estimar el grado de interferencia de esos factores en la evaluación laboratorial del calcio fueron desarrolladas fórmulas de corrección, siendo más utilizada la que considera la concentración sérica de albúmina en la corrección del valor del calcio total. El cuadro por lo general presenta concentración sérica total de calcio abajo de 7 mg/dL y respuesta a tratamiento con calcio.

El fósforo sérico está con frecuencia disminuido a un grado comparable al calcio. La glucosa sanguínea puede estar baja como resultado de la intensa actividad muscular asociada a la tetania.

Tratamiento de la eclampsia puerperal

Como tratamiento de la eclampsia se han usado tranquilizantes y soluciones electrolíticas. La única prevención clara es la necesidad de mantener los animales de producción protegidos con vacuna antitetánica a fin de facilitar la diferenciación clínica, a pesar de que el cuadro de eclampsia está siempre asociado al final de la gestación y al parto. La administración endovenosa lenta (con el propósito de evitar fibrilación ventricular y parada cardiaca) de una solución a 10% de calcio orgánico (borogluconato de calcio) resulta en rápida mejora clínica. En perras con peso de 5 a 10 kg es suficiente la aplicación de 10 mL de la solución. Los cachorros deben ser apartados de la madre durante veinticuatro horas para reducir la pérdida de calcio, período en que deben ser alimentados con sucedáneos lácteos. La administración suplementaria de calcio y vitamina D es útil en la prevención de recidivas. Como prevención se recomienda que durante la gestación la dieta posea una relación Ca:P de 1:1 a fin de evitar exceso de calcio y mantener activo el mecanismo endocrino de su movilización ósea.

Cloruro de calcio 10%, que es tres veces más potente que el borogluconato de calcio, también es un tratamiento eficaz, pero puede causar irritación severa en contacto con el tejido extravascular. La intervención terapéutica debe ser iniciada inmediatamente después del reconocimiento de los signos clínicos, sin esperar la confirmación bioquímica. Monitoreo cardiaco para bradicardia y arritmia deberá acompañar la administración de calcio, y en caso de ocurrir se debe optar por la suspensión temporal de la infusión y la instauración de infusión subsecuente más lenta. Los signos de intoxicación con inyección de calcio en cantidad exagerada y rápida incluyen bradicardia y acortamiento del intervalo QT.

Diazepam (1-5 mg IV) o barbitúricos pueden ser utilizados en el control de la actividad convulsiva tan pronto haya sido constatado el cuadro de eucalcemia. Los corticoides están contraindicados durante la tetania puerperal, pues estos agentes reducen las concentraciones séricas de calcio por promover calciuria, disminución de la absorción intestinal de calcio, y por perjudicar la osteoclasia. Si hay hipoglucemia se debe corregir con solución de dextrosa y de ser necesario será administrado tratamiento para hipertermia (baños de hielo y alcohol isopropílico con ventiladores). Tan pronto los signos neurológicos inmediatos hayan sido controlados con borogluconato de calcio intravenoso se administra una infusión subcutánea de igual volumen, diluido a 50% con solución salina. Si los signos son recurrentes este procedimiento podrá ser repetido cada ocho horas, hasta que el animal esté estabilizado. Se recomienda suplementación oral de carbonato de calcio (10-30 mg/kg) cada ocho horas y vitamina D para prevenir recidivas. Se incentiva el destete precoz (3 semanas de edad) mediante suplementación de los cachorros con sucedáneos lácteos comerciales.

El propietario debe ser advertido sobre el riesgo de recurrencia de eclampsia en futuras lactaciones. Las etapas a considerar para impedir la recurrencia incluyen alimentación de alta calidad, balance nutricional y dieta apropiada durante la gestación y la lactación, suministrando alimento y agua a voluntad. Si es necesario, la madre puede ser separada de los cachorros por treinta a sesenta minutos varias veces al día para ser estimulada a alimentarse; los cachorros pueden recibir lactancia artificial suplementaria y alimentos sólidos se pueden ofrecer a las tres o cuatro semanas de edad, principalmente si la camada es grande. La suplementación oral con calcio durante la gestación no es indicada, pues puede favorecer la ocurrencia de hipocalcemia en la lactación.

Osteoporosis

La osteoporosis es un trastorno óseo frecuente en vacas de alta producción a consecuencia del gasto excesivo de calcio en la leche, unido a deficiencia en su consumo. En este trastorno ocurre un desequilibrio de origen desconocido, en el cual la desmineralización del hueso ocurre a mayor velocidad que la formación/mineralización. En las vacas lecheras la osteoporosis constituye una enfermedad típica de producción que puede tener, entre otras causas, las siguientes:

(a) Deficiencia de calcio, fósforo o vitamina D: el fósforo es más importante en animales en crecimiento porque al ser necesario para la actividad y proliferación de la flora ruminal, su deficiencia

limita la producción de proteínas en el rumen, y un nivel de proteínas adecuado es fundamental para el metabolismo del hueso.

(b) Alta producción de leche, factor que puede agravar una deficiencia mineral.

(c) Desequilibrio en la relación Ca/P: esta relación en el hueso es de 2:1, en la leche es de 1:1 y en los alimentos puede exceder 3:1, lo cual significa que generalmente ocurre deficiencia relativa de fósforo, siendo necesaria su movilización de los huesos para mantener la homeostasis, lo que puede llevar a una patología ósea.

(d) Interacción con magnesio: el exceso de magnesio disminuye la disponibilidad tanto de calcio como de fósforo, compitiendo con el calcio en el proceso de absorción intestinal y formando sales insolubles que impiden la absorción del fósforo.

(e) Baja disponibilidad de minerales: afectada por factores como la edad, la relación Ca:P y el tipo de alimento. En animales jóvenes la disponibilidad de calcio es del 100% y la de fósforo del 90%, valores que en las vacas adultas caen a un 45% y 55%, respectivamente. La relación Ca:P en los alimentos debe ser 2:1. Por debajo de 1:1, como es el caso de las dietas a base de cereales, o por encima de 4:1, caso de los pastos en suelos muy encalados, la disponibilidad de calcio y fósforo se vuelve desfavorable. Los forrajes tienen menor disponibilidad de calcio, mientras que los cereales tienen mayor disponibilidad de calcio y fósforo.

(f) Otras condiciones: hipotiroidismo, hipogonadismo, hiperadrenocorticismo, deficiencia de vitamina C, diabetes mellitus y acromegalia, pueden ser causa de osteoporosis.

La osteoporosis es un trastorno crónico e insidioso, es decir, no es aparente durante un largo tiempo hasta llegar a un punto crítico en el que los síntomas comienzan a ser evidentes. Se caracteriza por debilitamiento de los huesos, deformaciones, dolor y tendencia a fracturas espontáneas, disminución de la capacidad para moverse y conseguir alimento. En los huesos largos se observa inflamación de las articulaciones y cojeras. Otros signos asociados, en especial cuando hay deficiencia de fósforo, son perversión del gusto (alotrofagia) e infertilidad. En el perfil sanguíneo los niveles de calcio, fósforo y fosfatasa alcalina pueden estar normales, pero los huesos muestran pérdida de la densidad cuando son analizados por rayos X. El tratamiento de la osteoporosis consiste en la suplementación mineral adecuada, siendo necesario, en ocasiones, administrar vitamina D vía parenteral y analgésicos para combatir el dolor.

Raquitismo y osteomalacia

El raquitismo y la osteomalacia son trastornos de la mineralización de los huesos debidos a la deficiencia de vitamina D, aunque también pueden ser causados por deficiencia de fósforo o calcio o por falta de exposición al sol. Otras causas de raquitismo incluyen: defectos en el metabolismo de la vitamina D (fallas en la hidroxilación en C-1 y/o en C-25), acidosis (el pH apropiado para la mineralización es mayor que 7,4) e inhibición de la mineralización del hueso por fluoruros o difosfonatos. La deficiencia de vitamina D tiende a ocurrir en animales confinados, mientras que la deficiencia de fósforo ocurre más por causa de alimentación exclusiva con pastos de mala calidad. Los animales confinados con dietas de crecimiento rápido son muy susceptibles. El trastorno se caracteriza por una deficiente mineralización de la matriz ósea. En el raquitismo hay desmineralización del cartílago, particularmente en las placas epifisiarias de los huesos largos, lo que resulta en crecimiento retardado.

La osteomalacia, propia de los adultos, puede ocasionar dolor intenso. Las articulaciones aumentan de tamaño y los huesos se curvan y deforman, impidiendo la adecuada movilización. Las costillas adquieren nódulos en las articulaciones costocondrales (rosario raquítico), los dientes retardan su erupción y la mandíbula se desalinea. El perfil sanguíneo puede mostrar niveles bajos de fósforo y, a veces, de calcio, y altos de fosfatasa alcalina. En general los signos clínicos aparecen cuando el producto Ca*P (mg/dL) es menor de 30 (referencia: 40-80). La corrección de la dieta y de los factores predisponentes, y la administración de vitamina D, por lo común recuperan el animal, a pesar de que algunas lesiones pueden persistir por un tiempo.

Hipercalcificación

Un exceso en el consumo de calcio, o el de vitamina D, pueden desencadenar la hipercalcificación, la cual moviliza las reservas de calcio de los huesos y aumenta su absorción intestinal. El exceso de consumo de calcio puede ser consecuencia de dietas desequilibradas, como en el caso de novillos o toros

alimentados con raciones para vacas lecheras. El exceso de calcio lleva a una hipercalcemia que induce la secreción permanente de calcitonina de las células C de la tiroides, las cuales, con el tiempo, pueden sufrir hiperplasia y, eventualmente, neoplasia. El resultado es la calcificación de los tejidos blandos. Los animales afectados sufren cojeras, dolor y rigidez articular, causando muchas veces impotencia *coeundi* en los reproductores por sínfisis vertebrales.

Las intoxicaciones con vitamina D pueden tener varias causas, tales como tratamientos excesivos para prevenir fiebre de la leche en vacas o el consumo de plantas tóxicas que contienen compuestos de intensa actividad de vitamina D (glucósido de 1,25-DHCC), sobre todo cuando no hay disponibilidad de forraje. El perfil sanguíneo puede mostrar niveles de calcio superiores a 13 mg/dL y de fósforo mayores a 12 mg/dL. La intoxicación puede tardar hasta un año en manifestarse, si bien la mortalidad es alta (60%). Puede ocurrir calcificación del endotelio de las arterias y del corazón, así como osteopetrosis (calcificación excesiva de los huesos).

Fósforo

Metabolismo

El contenido total de fósforo en el organismo es casi la mitad del contenido de calcio. Aproximadamente 85% del fósforo del organismo está en el esqueleto como fosfato inorgánico. La relación Ca:P en los huesos es de 2:1, y la relación Ca:P en los alimentos, óptima para su absorción, también es de 2:1; no obstante, la relación Ca:P en la leche es de cerca de 1:1, esto significa que en las vacas lecheras hay tendencia a una deficiencia de fósforo, lo cual puede ser superado mediante la suplementación con concentrados, pues los cereales, componentes básicos de los concentrados, son ricos en fósforo. La relación Ca:P en el plasma es recíproca, o sea que cuando el fósforo disminuye el calcio aumenta, y viceversa. Los niveles plasmáticos de fosfato fluctúan hasta en 50%, a diferencia de los niveles de calcio, que mantienen su homeostasis dentro de estrechos límites.

En los tejidos blandos el fósforo está en mayor concentración que el calcio. Por ejemplo, en el músculo hay 2-3 g de P/kg y 0,1 g de Ca/kg. El fosfato inorgánico en el plasma está como ortofosfato con una relación $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^-$ de 4. Aproximadamente 12% del fosfato plasmático está unido a proteínas. La concentración de fosfato plasmático es de 1,0-1,5 mmol/L (4,5 a 7,0 mg/dL). Entre 70% y 90% del fosfato ingerido en la dieta es absorbido por medio de un transporte activo. El fosfato inorgánico en el plasma se excreta vía renal, siendo más fácilmente difusible a través del glomérulo que el Ca^{2+}. La principal ruta de excreción del fosfato inorgánico es el riñón, mientras que para el calcio el control básico de la homeostasis es la tasa de absorción en el tracto gastrointestinal. El fósforo también se excreta en grandes cantidades por la saliva, siendo en gran proporción reabsorbido por el intestino, con lo cual establece un ciclo importante para la homeostasis del fósforo. La presencia de fósforo en la saliva es importante como tampón para mantener el pH óptimo en el rumen, siendo vital para la actividad y crecimiento de los microorganismos.

Funciones del fósforo

(a) El fósforo hace parte de la estructura de la matriz ósea, junto con el calcio.

(b) Es componente de nucleoproteínas, fosfoproteínas, fosfolípidos y ácidos nucleicos, por tanto, es de vital importancia para el crecimiento.

(c) La función más importante del fósforo es como participante en importantes vías metabólicas, siendo integrante de muchos intermediarios relacionados con el metabolismo energético (ATP, GTP, creatina-fosfato, glúcidos fosfatados), así como de nucleótidos envueltos en la acción hormonal (cAMP, cGMP).

(d) El fósforo participa, en la forma de fosfato inorgánico, en el equilibrio ácido-básico intracelular.

(e) El fósforo actúa como componente estructural y activador de coenzimas (NAD, NADP), esenciales en el metabolismo.

(f) El fósforo es necesario para el metabolismo y el crecimiento de las bacterias ruminales, en especial las celulolíticas, que tienen mayores exigencias de este mineral.

Deficiencia de fósforo

El fósforo desempeña un papel de gran importancia en el organismo para el desarrollo del animal joven y el mantenimiento del animal adulto debido

a su participación en el metabolismo energético, principalmente en la generación de moléculas de fosfolípidos, fosfoproteínas, así como en el crecimiento y fortalecimiento de huesos y tejidos blandos. Cumple la función de amortiguar sistemas ácidos o alcalinos, ayudando al mantenimiento del pH, en el almacenamiento temporal de energía proveniente del metabolismo de macronutrientes, en la forma de ATP, además es responsable de la activación, por medio de la fosforilación, de diversas cascadas enzimáticas. Los eritrocitos, en especial, incorporan iones fosfato del plasma y los utilizan en su propio mantenimiento, sobre todo para obtener energía en la forma de ATP para mantener la integridad de la membrana celular, lugar donde ocurren los principales eventos bioquímicos de estas células.

Numerosos estudios muestran que la carencia de fósforo en bovinos es común en todo el mundo. En muchas regiones del planeta el fósforo en los pastos alcanza niveles menores de 0,07 % en la materia seca, debiendo ser suplementado para cubrir la exigencia mínima (0,18 %). La deficiencia de fósforo ha sido diagnosticada desde la década de 1940, en primera instancia por el diagnóstico clínico y en seguida complementada por análisis bioquímicos. Los bovinos mantenidos en pastoreo son en especial susceptibles a esta carencia debido al contenido bajo de fósforo en los pastos, principalmente en regiones tropicales y subtropicales, por lo cual ser suplementado para atender la demanda.

Cuando la ingestión de fósforo es adecuada su absorción es proporcional al consumo. Si el aporte dietético es bajo se aumenta su eficiencia de absorción, y cuando el aporte es elevado la absorción disminuye. Esa respuesta adaptativa al fósforo dietético es específica del cotransporte sodio/fósforo. Otros minerales pueden ser fundamentales en el aprovechamiento del fósforo ingerido, pues pueden ligarse a este mineral e impedir su absorción, como en los casos del magnesio, el aluminio y el hierro, que forman precipitados comprometiendo este proceso.

Uno de los factores que interfieren en la biodisponibilidad de los minerales tiene relación con las interacciones que ocurren entre ellos, las cuales pueden ser de forma directa o indirecta. Las interacciones directas son por lo general fenómenos competitivos que ocurren durante la absorción intestinal o utilización tisular, mientras que las indirectas suceden cuando un mineral está relacionado con el metabolismo del otro, de modo que la deficiencia de uno lleva al perjuicio de la función del otro. La relación Ca:P es un ejemplo importante, que afecta la absorción de ambos minerales en la mayoría de los animales. En bovinos de carne esta proporción es menos crítica, tolerándose relaciones Ca:P de hasta 7:1, sin efectos perjudiciales si los niveles de fósforo son adecuados. El estudio de los efectos del calcio en el metabolismo del fósforo revela que la adición de diferentes cantidades de calcio genera una disminución significativa en la excreción urinaria de fósforo y un aumento en su excreción fecal. Investigaciones sobre la absorción y excreción endógena de fósforo en pollos alimentados con dietas conteniendo diferentes relaciones Ca:P ponen de manifiesto que mientras mayor sea esta proporción, menor es la absorción y la excreción endógena y mayor la retención de fósforo. También se evidenció que un alto nivel de calcio en una dieta puede inhibir la absorción de fósforo.

El transporte renal de fósforo puede ser regulado por factores hormonales y dietéticos. La principal hormona involucrada en esa regulación es la PTH, la cual a niveles elevados disminuye el umbral de la concentración plasmática a la que ocurre la máxima reabsorción de fósforo, esto es, estimula la excreción urinaria de fósforo. Los detalles moleculares de la acción del PTH en el transporte renal de este elemento no están totalmente esclarecidos; en la medida en que los niveles séricos de fósforo aumentan, ocurre una elevación en sus mecanismos de filtración y reabsorción, estando el mecanismo reabsortivo rápidamente saturado y la excreción aumentada en proporción a la carga filtrada. La concentración plasmática en la cual ocurre la máxima reabsorción de fósforo con relación a la filtración glomerular es muy próxima de la concentración plasmática de fósforo en el ayuno, indicando que la regulación renal sucede en una estrecha franja. Bajos niveles de fósforo plasmático también afectan la acción de la enzima glutatión reductasa, disminuyendo su actividad en los eritrocitos.

Debido a que la carencia de fósforo puede ser confundida con otros estados deficitarios con signos clínicos semejantes, y a que las deficiencias marginales no son fácilmente detectables, el factor determinante para caracterizar la deficiencia de este mineral es la respuesta favorable del animal frente a la suplementación fosfórica. Los niveles de fósforo en el plasma descienden de forma clara durante la deficiencia, siendo los niveles considerados normales mayores de 4,5 mg/dL. Los

signos clínicos de la deficiencia de fósforo son muy parecidos a los de la deficiencia de calcio.

Signos clínicos de la deficiencia de fósforo

La primera característica del desequilibrio de fósforo es el menor consumo de alimento, lo que puede causar, especialmente en bovinos y ovinos, trastornos en la fertilidad y el crecimiento, claudicación, caída de la producción y, en casos avanzados, disminución en la digestión y lesiones óseas. Algunos autores mencionan que la causa de la enfermedad conocida como 'cara hinchada' u osteodistrofia fibrosa de los bovinos es una deficiencia compleja que implica al calcio, el fósforo y el zinc. Los mecanismos fisiológicos involucrados en la merma de ingestión indican reducción del fósforo en las vías metabólicas celulares con menor disponibilidad del AMPc, ATP y otras moléculas.

En los bovinos lecheros, cuyo período posparto requiere gran cantidad de energía, la deficiencia de fósforo se vuelve aún más preocupante debido a los numerosos trastornos clínicos y subclínicos que afectan a estos animales. Hay mengua significativa de los niveles intracelulares de fósforo en los hepatocitos durante el posparto, atribuida a una reducción en el volumen del citosol de estas células, aunque el significado clínico de este hecho aún no se ha dilucidado. Los animales más susceptibles a la deficiencia de fósforo son las vacas jóvenes con cría al pie, que exhiben primero los signos clínicos de la carencia debido a la alta demanda de este elemento; a continuación se sitúan las vacas adultas, seguidas de los animales en crecimiento (machos y hembras), animales en fin de cebo y, por último, los recién destetados, que poseen reservas de fósforo adquiridas durante el amamantamiento.

La hipofosfatemia moderada y crónica, con fósforo plasmático entre 2 y 4 mg/dL, causa una sutil disminución de las producciones. En situaciones de mayor severidad la capacidad productiva del animal y el consumo de alimento disminuyen bastante. La presencia de decúbito y paresia cuando el calcio plasmático es normal se asocia a concentración de fósforo por debajo de 1 mg/dL. Un signo clínico avanzado de falta de fósforo es la depravación del apetito, que lleva al animal a ingerir material extraño (alotrofagia) y al riesgo de intoxicaciones por *Clostridium botulinum* (botulismo) por ingerir huesos de animales muertos. De lo anteriormente expuesto se deduce la importancia de diagnosticar la carencia de fósforo en su estado subclínico, ya que es la carencia mineral más común en los animales. La deficiencia marginal es económicamente más perjudicial, pues por la ausencia de signos clínicos no se toma ningún cuidado para aumentar el potencial de productividad de los animales. El desarrollo de métodos diagnósticos de deficiencia subclínica es de gran valor, debido a que la corrección de ese disturbio en la fase inicial puede realizarse con dietas más adecuadas. La utilización del fósforo plasmático como método único y confiable en la determinación de la deficiencia tiene sus limitaciones, porque el mantenimiento de los niveles séricos dentro de valores normales puede ocurrir por medio de la resorción (desmineralización) del tejido óseo. Así, son necesarias tanto alternativas de diagnóstico, para caracterizar tal deficiencia, como estrategias que reduzcan al máximo la cantidad de fósforo en la dieta de modo que se controle la contaminación ambiental sin perjudicar el rendimiento productivo de los animales.

Tratamiento de la deficiencia de fósforo

Un nivel adecuado de fósforo raramente se logra con una dieta a base de pastos, sin que haya suplementación mineral. En general, los granos de cereales y harinas de oleaginosas contienen una cantidad moderada de fósforo, y en los productos de origen animal ese valor es considerado alto. Por lo común el bajo nivel de fósforo en las plantas está directamente relacionado con la deficiencia del mineral en el suelo. Cuando el nivel de fósforo en la dieta no suple la demanda del animal, las células de los tejidos son las primeras afectadas, ya que dependen del suministro proveniente de los alimentos. Si la deficiencia persiste durante un período prolongado y el diagnóstico es tardío, surgen diversos signos clínicos que afectan el rendimiento del animal, en ocasiones de forma irreversible. Para corregir este desequilibrio se acostumbra suplementar a los animales con fuentes de fósforo orgánico, como harina de huesos, o principalmente en la forma inorgánica como fosfato bicálcico o roca fosfórica; este último, no obstante, tiene menor biodisponibilidad y poca palatabilidad, además de poseer altos niveles de flúor. Con relación al suministro de harina de hueso se debe evaluar la legislación antes de recomendar su uso, sobre todo en rumiantes. También se puede utilizar otra fuente de fósforo orgánico administrado vía parenteral. Durante la suplementación oral se deben evitar concentraciones elevadas que traigan perjuicios a la salud y al rendimiento

de los animales. Varios estudios revelan que no existe diferencia en la producción y composición de la leche de animales suplementados con fósforo, ni efecto sobre el estado sanitario o la condición corporal de los animales, aunque su uso en exceso puede causar problemas relacionados con la excreción de fósforo en las heces, hecho que causa gran preocupación debido a la contaminación ambiental.

Vacas de carne al final de gestación y vacas lecheras que permanecen en decúbito después del tratamiento para hipocalcemia son con frecuencia hipofosfatémicas. Algunas de esas vacas caídas se benefician con la administración endovenosa de fosfatos para restaurar la concentración normal de fósforo. El fosfato monosódico es una forma soluble de fosfato que puede ser administrado vía endovenosa (30 g de fosfato monosódico en 300-500 mL de agua destilada). Una solución que incluya calcio, magnesio, así como fósforo, puede favorecer la recuperación del animal. Una posibilidad para administración oral es: 0,5-0,75 kg de propionato de calcio o 0,25-0,35 kg de clorato de calcio, más 0,35 kg de fosfato monosódico y 0,5 L de propilenglicol o glicerina disueltos en 6 a 12 L de agua tibia.

Hemoglobinuria puerperal

Este trastorno ocurre debido a la excreción excesiva de fósforo por la glándula mamaria y puede estar ligado a hipocalcemia e hipomagnesemia. Está asociado al exceso de fertilización en los pastos, al elevado consumo de forrajeras muy proteicas (*raygrass*) y a la alta producción de leche. Se excreta en la leche hasta 1,5 g de fósforo por litro, lo que puede provocar un cuadro de deficiencia de este mineral. El trastorno es más frecuente en vacas en las primeras cinco semanas de lactación. Puede aparecer también en el período de preparto, pero no afecta a animales jóvenes ni a vacas de carne.

La deficiencia aguda de fósforo presenta dos síntomas clásicos: hemoglobinuria y anemia, que ocurren debido a una hemólisis intravascular como consecuencia del aumento de la fragilidad de los eritrocitos por la falta de ATP intracelular. Generalmente el animal entra en decúbito por debilitamiento debido a la anemia, estando alerta y arrastrándose en la conocida como 'posición de foca'. El color de la leche puede aparecer rojizo y la producción caer abruptamente. El trastorno puede ser mortal cuando ocurren trombos obstructivos en el hígado. El decúbito prolongado provoca úlceras, estasis de la circulación periférica, necrosis muscular y endotoxemia que lleva a parálisis de los proventrículos, alcalosis ruminal y degeneración celular. Otros signos son hipertermia (por la presencia de hemoglobina libre en la sangre), pulso cardiaco aumentado, deshidratación, disnea y, en la fase final, ictericia. En casos de destrucción masiva de eritrocitos ocurre hipotermia, que desencadena colapso con muerte rápida. La sangre puede mostrar niveles bajos de fósforo sérico (menores que 1,0 mg/dL) y anemia normocítica y normocrómica. El diagnóstico diferencial debe incluir babesiosis, hemoglobinuria bacilar, hematuria esencial y leptospirosis.

En el tratamiento se debe suministrar al animal fósforo de alta biodisponibilidad (como glicerofosfato de sodio), glucosa, antioxidantes y protectores musculares (selenio y vitamina E), así como soluciones mixtas de fósforo y magnesio. Está totalmente contraindicada la aplicación de calcio porque la hipercalcemia estimula la salida de potasio del músculo y agrava el cuadro de debilidad muscular. En algunos países como Nueva Zelanda y Australia se utiliza la aplicación de cobre en el tratamiento. El suministro de forrajes del género crucífera (col, nabo, repollo) y la colza forrajera predisponen a la hemoglobinuria puerperal. Como prevención se debe evitar la sobrealimentación en el preparto, no ocasionar sobrecarga hepática que pueda llevar a hígado graso, realizar un adecuado programa de secado (sobre todo en vacas de alta producción), controlar el consumo de crucíferas y colza y, finalmente, utilizar mezclas minerales con suficiente cantidad de fósforo disponible (mínimo 12%). El pronóstico depende de la gravedad de los signos clínicos. En casos de anemia severa y decúbito prolongado con necrosis muscular es mejor optar por el sacrificio del animal. Se debe monitorizar el recuento eritrocitario para establecer la recuperación: cuadros moderados son compatibles con contajes de hasta 2,5 millones/μL, mientras que en casos graves el recuento puede ser inferior a 1,5 millones/μL.

Potasio

Metabolismo

El potasio participa en el mantenimiento del equilibrio ácido-básico y de la presión osmótica de las células. Ese mineral es cofactor de la enzima piruvato quinasa, que transfiere el grupo fosfato del fosfoenolpiruvato

para el ATP, en la fosforilación a nivel de sustrato que ocurre durante la glucólisis. También el potasio activa varias enzimas del metabolismo. El potasio, junto con el sodio, es responsable del potencial de membrana en las células del sistema nervioso central y de los músculos. Bajas concentraciones de potasio disminuyen la frecuencia cardiaca, mientras que altas concentraciones provocan arritmias cardiacas y afectan el transporte de O_2 y CO_2 por la hemoglobina.

En los rumiantes el potasio participa en el sistema tamponante del rumen, favoreciendo el crecimiento y la función de las bacterias ruminales, particularmente las de tipo celulolítico. El potasio es absorbido en todos los segmentos del tracto digestivo a través del proceso de difusión. Ganado alimentado con pastos que contienen bajas concentraciones de potasio tiene reaprovechamiento del potasio endógeno, principalmente el asociado a la saliva y al jugo gástrico. El potasio excedente es eliminado a través de la orina. La relación Na:K está básicamente regulada por la aldosterona. El efecto de esta hormona es absorber sodio y, secundariamente, excretar potasio en los túbulos renales.

Deficiencia de potasio

No es muy común la deficiencia de potasio, a menos que la alimentación contenga niveles muy bajos de este mineral; una situación de diarrea, acompañada de balance negativo de potasio en la dieta, pueden llevar a la deficiencia. Los signos de deficiencia de potasio incluyen retraso en el crecimiento, inapetencia, ataxia, atonía intestinal, caída en la productividad y disminución del gasto cardiaco. Los niveles de potasio en la sangre y la leche disminuyen y los de sodio aumentan, ocurriendo lo contrario en la orina. El hematocrito puede estar aumentado.

Toxicidad del potasio

Puede ocurrir toxicidad con potasio cuando se alimentan animales en pastos con exceso de estiércol usado en la fertilización. Está caracterizada por disminución de la función reproductiva, particularmente si la dieta también es deficiente en sodio. Otros signos de la toxicidad con potasio incluyen espasmos musculares, disminución del aporte sanguíneo a los tejidos, edema de las extremidades y muerte.

Azufre

Metabolismo

El azufre (S) hace parte de los aminoácidos sulfurados, cisteína y metionina, y de las vitaminas sulfuradas, biotina y tiamina, participando por tanto en la estructura de proteínas, enzimas, hormonas, coenzimas y pigmentos que hacen parte de la respiración celular. La metionina es fuente específica de grupos metilos utilizados en la síntesis de colina, acetilcolina, adrenalina y creatina. La cisteína es precursora de la coenzima A y participa en la síntesis del glutatión, junto con el ácido glutámico y la glicina. El glutatión puede estar en las formas reducida (GSH) y oxidada (GS-SG) y participa en las reacciones de defensa contra los agentes oxidantes en las membranas celulares. El azufre se absorbe en el intestino delgado y los aminoácidos sulfurados se absorben directamente sin descomposición, mediante transporte activo. Los sulfatos inorgánicos son absorbidos solo en el intestino delgado. En el rumen el azufre es esencial para los microorganismos responsables de la digestión de la celulosa, por el aprovechamiento de las fuentes de nitrógeno no proteico y por la síntesis de las vitaminas del complejo B. Ciertas especies de bacterias ruminales pueden utilizar el azufre inorgánico para incorporarlo directamente a los aminoácidos sulfurados. Eso fue demostrado en rumiantes recibiendo sulfatos vía oral y observando la incorporación de azufre radiactivo en cisteína, metionina y proteína microbiana. La absorción y asimilación de los aminoácidos sulfurados son determinadas por los niveles de proteína y energía en el alimento. El requerimiento normal de azufre por el organismo animal es parcialmente suplido por el azufre contenido en los compuestos sulfurados. El azufre en exceso se excreta por las heces y la orina.

Deficiencia de azufre

La deficiencia de azufre está definida por la necesidad de metionina, aminoácido limitante que puede estar en cantidades mínimas en la dieta. La deficiencia de metionina inhibe el crecimiento y el desarrollo de animales jóvenes y disminuye la productividad en animales adultos; sin embargo, la adición de metionina en dietas deficientes de este aminoácido solo resulta efectiva si la dieta contiene niveles adecuados de energía.

Toxicidad del azufre

Es más probable que pueda ocurrir intoxicación por azufre en rumiantes suplementados con sustancias que contengan el mineral, tales como sulfato de amonio, para suministrar nitrógeno no proteico, o sulfato de calcio, como fuente de calcio. La causa de la toxicidad es la formación de ácido sulfhídrico (H_2S) por la flora gastrointestinal, compuesto que deprime la motilidad ruminal y causa trastornos nerviosos y respiratorios. En ovejas se determinó un valor de 0,4 % de azufre en la dieta como nivel tolerable de azufre.

Sodio

Metabolismo

Junto con el potasio y el cloro, el sodio (Na) está presente en el mantenimiento de la presión osmótica y los sistemas tampón en los fluidos intra- y extracelulares, en el transporte de nutrientes y en la transmisión de impulsos nerviosos. Propiedades particulares del sodio incluyen su efecto sobre la capacidad de expansión de las proteínas coloidales, el mantenimiento, junto con el potasio, de la actividad normal del músculo cardiaco, y la participación en el proceso de excitación nerviosa y muscular. Las sales de sodio en los alimentos y en los suplementos minerales son fácil y rápidamente solubilizadas y absorbidas por el tracto gastrointestinal. El sodio es absorbido por transporte activo, a través de un sistema de bomba Na-K-ATPasa. Cerca de 80 % del sodio que entra en el tracto digestivo proviene de secreciones internas, tales como saliva, fluidos gástricos, bilis y jugo pancreático. El sodio se excreta en la orina como sal, por acción primaria de la aldosterona, siendo excretado en pequeñas cantidades en las heces y el sudor. Parte del sodio absorbido es retenido en los tejidos, que funcionan como depósitos en el cuerpo. En los animales en crecimiento el sodio se incorpora, en la forma de cristales, durante la formación de los huesos. En la lactopoyesis los iones de Na^+ son extraídos directamente de la sangre, de donde son transportados activamente para la glándula mamaria. El sodio también pasa a través de la placenta para el feto mediante difusión pasiva.

La regulación de la concentración de sodio en el organismo es controlada hormonalmente por medio de mecanismos direccionados no solo para mantener el nivel de sodio sanguíneo, sino también la relación Na:K en el fluido extracelular. La aldosterona, hormona secretada por el córtex adrenal, estimula la reabsorción de sodio en los túbulos renales, al tiempo que facilita la excreción de potasio. La hormona vasopresina (ADH), secretada por la neurohipófisis, es responsable de controlar la presión osmótica de la corriente circulatoria mediante la estimulación de la absorción de agua en los túbulos renales.

Deficiencia de sodio

La más común de las deficiencias minerales es la de sodio, principalmente en los animales en pastoreo, debido a que los vegetales en general contienen bajos niveles del mineral. Los animales más predispuestos a sufrir deficiencia de sodio son los que están en fase de crecimiento y recibiendo dietas basadas en cereales o forrajes con bajo nivel de sodio. También merecen suplementación de sodio animales que están en lactación, los que realizan trabajo y transpiran en abundancia, o los que están en condiciones de altas temperaturas. Los principales signos de la deficiencia de sodio en rumiantes son alotrofagia (consumo de material extraño), pelo áspero y seco, baja productividad, cansancio, retraso en el crecimiento en animales jóvenes, disminución de la producción de leche, pérdida de apetito y de peso. Signos más severos de la deficiencia incluyen incoordinación motora, irritación, debilitamiento y arritmia cardiaca que puede llevar al animal a la muerte. El tratamiento consiste en la suplementación con sal conteniendo 20 % a 35 % de NaCl, en la cantidad de 45 a 50 g/animal/día.

Toxicidad del sodio

El factor que más afecta a la toxicidad por sodio es la disponibilidad y la ingestión de agua por parte del animal. Con adecuado suministro de agua los animales pueden tolerar cantidades relativamente altas de sal en la dieta. Los niveles máximos de sodio en la dieta son de 1,6 % para bovinos lactantes y de 3,5 % para bovinos de carne y ovinos. Los signos de la intoxicación por sodio incluyen aumento exagerado del consumo de agua, anorexia, pérdida de peso, edema, inquietud y parálisis.

Cloro

Metabolismo

El cloro es el principal anión del fluido extracelular. Así como el sodio, el cloro es también responsable

del equilibrio ácido-básico y la manutención de la presión osmótica. La concentración de cloro es afectada de modo indirecto por cambios en la concentración de sodio y, parcialmente, de potasio. La hormona ADH intensifica la excreción de cloro y reduce su absorción por los túbulos renales. El cloro presente en la alimentación animal, por lo general en la forma de cloruro, es rápidamente absorbido en el tracto gastrointestinal, aunque necesita de un umbral mínimo para que eso ocurra. La mayor concentración de cloro en el organismo está en las células de la mucosa gástrica. El cloro de las secreciones gástricas, como HCl, se obtiene a través de la sangre y normalmente se reabsorbe durante la última fase de la digestión en el intestino grueso. El cloro se excreta a través de la orina y, junto con el sodio y el potasio, de la transpiración.

Deficiencia de cloro

Los signos de la deficiencia de cloro están íntimamente ligados con los de deficiencia del sodio; sin embargo, es mucho más frecuente que ocurra una deficiencia de sodio que de cloro. La suplementación con sal mineral o sal común es necesaria para que no ocurra ninguna de estas dos deficiencias.

Toxicidad del cloro

El cloro, al igual que el sodio, suele ser tóxico cuando se ingiere en cantidades excesivas, si los animales no disponen de agua para beber o si esta es limitada. Los niveles máximos de tolerancia de NaCl y de otros minerales pueden variar según la especie, adaptación, edad y condición física del animal. La toxicidad del cloro se caracteriza por aumento en el consumo de agua, anorexia, pérdida de peso, edema, signos nerviosos y parálisis.

Magnesio

Metabolismo

Aproximadamente 70 % del magnesio del organismo está localizado en los huesos. Del porcentaje restante, 29 % se localiza en los tejidos blandos y 1 % en los fluidos corporales. Eso significa que, en un animal adulto, existen apenas 1-2 g de magnesio disponibles de forma inmediata. En general la disponibilidad de magnesio en los pastos es baja, del orden de 5 % a 30 %, mientras que en los concentrados es mayor (10 %-40 %). Las necesidades de magnesio en una vaca de alta producción son del orden de 26 g/día. El magnesio, en los rumiantes, es absorbido en el rumen por mecanismo activo de transporte, y su absorción sufre interferencia por altos niveles de potasio, nitrógeno y ácidos grasos. Como el metabolismo de los huesos no está muy involucrado en la homeostasis del magnesio el animal depende más del magnesio de la dieta y el organismo utiliza el riñón para controlar el nivel sanguíneo. El exceso de magnesio se excreta por la orina, de forma que los niveles urinarios y sanguíneos de magnesio son buenos indicadores del equilibrio ingestión/gasto en el animal. La concentración de referencia de magnesio plasmático está en torno de 1,8 a 3,0 mg/dL. Aunque no se conoce ningún sistema endocrino específico que regule la homeostasis del magnesio, estudios sugieren que las hormonas calciotrópicas pueden tener alguna participación en el metabolismo de este mineral. Así, la PTH aumentaría el umbral renal de excreción de magnesio, impidiendo la disminución de sus niveles en la sangre, y el 1,25-DHCC disminuiría la concentración de magnesio por aumentar su excreción.

El magnesio es esencial como cofactor enzimático en reacciones relacionadas con el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas, especialmente las que participan en la transferencia de grupos fosfato y en la hidrólisis del ATP. El magnesio también participa en mantener el potencial de membrana de las células nerviosas en la placa neuromuscular. La disminución de magnesio plasmático a valores menores de 1,2 mg/dL provoca tetania, la principal manifestación clínica de la deficiencia de este mineral. Eso ocurre porque el mecanismo por el cual el calcio retorna a los compartimientos de almacenamiento en la célula muscular después del impulso nervioso envuelve un sistema Ca-Mg-ATPasa. Al faltar magnesio el sistema no funciona y mantiene la excitabilidad y la contracción muscular por la presencia de calcio intracelular.

Hipomagnesemia

La tetania de los pastos o hipomagnesemia es un trastorno que ocurre por deficiencia de magnesio, considerando que las reservas de este mineral no tienen disponibilidad inmediata y debe ser suministrado diariamente. Los niveles de magnesio excretados en la leche son bajos y los animales lactantes pueden sufrir el trastorno. La hipomagnesemia en los rumiantes tiene relativamente poca incidencia (menor que 2 %),

pero es fatal en la mayoría de los casos. No está necesariamente relacionada con el parto, aunque las vacas lactantes sean más susceptibles debido a la demanda de magnesio en la leche. En la tetania hipomagnesémica los niveles sanguíneos de magnesio pueden caer de su valor normal de 2,5-3,0 mg/dL a menos de 1,0 mg/dL. Como la regulación homeostática del magnesio no está muy bien controlada (a diferencia del control endocrino del calcio), con frecuencia ocurre una hipomagnesemia subclínica que puede complicarse cuando la dieta es deficitaria y la demanda alta, principalmente en vacas de gran producción. La hipomagnesemia se observa con relativa frecuencia en rebaños en pastoreo (sobre todo en la primavera) o con alimentación básica de ensilado rico en gramíneas con alto contenido de nitrógeno, siempre ligada a la presentación de situaciones estresantes.

Etiología de la hipomagnesemia

Algunos procedimientos de manejo pueden favorecer la presentación de esta patología, tales como el abono excesivo de los pastos con nitrógeno y potasio, que impiden la absorción de magnesio por la planta, el consumo elevado de material verde y la alta humedad ambiental, causantes de efecto laxante con pérdidas de magnesio. Algunas condiciones nutricionales como un elevado consumo de proteína, que lleva a aumentar el nivel de amonio en el rumen, pueden generar sales (fosfato amónico-magnésico) que reaccionan con ácidos grasos de cadena larga y forman precipitados de jabones insolubles, impidiendo la absorción intestinal de magnesio. Ciertos desequilibrios minerales, en especial de calcio, pueden precipitar el trastorno, ya que el transportador sanguíneo es el mismo para los dos minerales y un exceso de calcio puede ocasionar déficit de magnesio. A diferencia de lo que ocurre con el calcio y el fósforo, no se conoce un sistema de control endocrino del magnesio.

Las vacas lecheras poseen pequeñas cantidades de magnesio disponible y dependen del continuo aporte de la dieta y la adecuada absorción en el intestino para mantener las necesidades diarias, las cuales son de un mínimo de 30 g para mantenimiento y 1 g adicional por cada litro de leche producido. Los animales confinados y alimentados con concentrados no suelen verse afectados. Otros factores predisponentes que pueden causar casos de tetania de los pastos son: estrés por transporte, recorrido de largas distancias, pastos de baja calidad (niveles de magnesio en el pasto menores que 0,2 %) y cambios súbitos en la alimentación, por ejemplo, paso de alimentación de invierno a pastos suculentos de primavera, los cuales tienen menor disponibilidad de magnesio y mayor contenido de nitrógeno y/o potasio.

Signos clínicos de la hipomagnesemia

Existen dos formas del trastorno, clínica y subclínica. En la forma subclínica ocurre temblor muscular permanente, incoordinación y nistagmo ocasional. En este estado, determinados factores como el estrés (vacunaciones, manejo, transporte, parto) pueden llevar a la forma clínica, caracterizada por decúbito, parálisis espástica de las extremidades, prolapso del tercer párpado, opistótonos, reflejos exaltados, hipersensibilidad auditiva y visual, contracciones y convulsiones, y finalmente la muerte del animal. En la forma clínica los niveles sanguíneos de magnesio son inferiores a 2,0 mg/dL. La forma subclínica puede ocurrir por deficiente consumo de magnesio o por pobre absorción de magnesio en pastos con alto contenido proteico (*raygrass*, alfalfa) o en praderas abonadas excesivamente con urea, potasio y sodio, que bloquean la absorción de magnesio en la planta. Clínicamente es difícil detectar el trastorno, pues en la mayoría de los casos el curso de los signos clínicos es tan rápido que apenas se puede observar el animal colapsado en tetania y morir enseguida. A veces se ven animales afectados mugiendo sin razón o corriendo súbitamente de forma eufórica para caer luego en convulsiones. En los casos agudos también se presenta hipertermia y latidos cardiacos irregulares y tan fuertes que pueden ser oídos a cierta distancia, así como hiperestesia y espasmos tetánicos; la tasa de mortalidad es alta. La confirmación diagnóstica se obtiene por valores muy bajos de magnesio en la orina o en el humor acuoso o vítreo (menores que 0,5 mg/dL), hipomagnesemia (menores que 1,0 mg/dL) y, casi siempre, hipocalcemia.

Tratamiento de la hipomagnesemia

El tratamiento consiste en administrar una solución de sulfato de magnesio al 10 % vía endovenosa para elevar los niveles séricos de magnesio y conseguir una rápida recuperación del animal. La forma oral no funciona bien, pues puede haber dificultad de absorción. El óxido de magnesio tiene buena absorción intestinal, aunque es de mayor costo. Para evitar recurrencia es

importante mantener la suplementación oral de magnesio y, si es necesario, repetir la dosis. En la administración intravenosa es necesaria mucha precaución, puesto que soluciones saturadas de sulfato de magnesio han sido usadas como eutanásico en animales por causar fibrilación ventricular y colapso respiratorio.

De forma preventiva debe mejorarse el consumo de magnesio, lo que a veces se vuelve un problema práctico. Se emplea magnesita calcinada (MgO) mezclada con el alimento, pulverizada en el pasto, mezclada con melaza, o incluso en forma líquida. Las sales de magnesio más solubles, como sulfato de magnesio, son muy caras como tratamiento preventivo. La dosis de protección es de 60 g/día cuando las circunstancias favorecen la presentación de hipomagnesemia. Otras medidas preventivas incluyen: disminuir la fertilización con potasio, reducir el movimiento y el estrés de los animales, suministrar heno o forraje fibroso para mejorar la digestión y evitar la inhibición de la absorción de magnesio, suplementar con sales de magnesio de forma estratégica diaria y proteger los animales contra cambios bruscos de la temperatura, en especial contra el frío. El pronóstico es generalmente desfavorable debido a la rapidez de presentación de los signos. Junto al tratamiento con magnesio debe proveerse una terapia de soporte para la necrosis muscular y la hipoglucemia.

6.3 Oligoelementos

Hierro

Metabolismo

El hierro es componente importante de algunas metaloproteínas no enzimáticas, tales como hemoglobina, mioglobina, ferredoxina y ferritina, y también de algunas enzimas como citocromos, citocromo-oxidasa, peroxidasas, catalasa y xantina oxidasa. Los pastos por lo general contienen cantidades adecuadas de hierro (50-300 ppm) para las necesidades del animal (cerca de 30 ppm), siendo muy rara la deficiencia de este mineral en animales; no obstante, los niveles de hierro pueden caer significativamente en pastos viejos y en el invierno. La disponibilidad de hierro en los forrajes varía mucho (10% - 40%) y la absorción intestinal del mineral es baja, siendo menor en los adultos (5% - 15%) que en los jóvenes (15% - 20%). La principal fuente vegetal de hierro en la naturaleza son las hojas de leguminosas. La harina de sangre contiene alta cantidad de hierro, aunque es de difícil utilización. Las semillas de cereales y la leche son pobres en este elemento.

La homeostasis del hierro ocurre primariamente por ajuste de la absorción intestinal, de forma que la tasa de absorción está limitada a las necesidades y es afectada por la edad, la condición del tracto gastrointestinal y la disponibilidad del hierro. En casos de parasitismos e infecciones intestinales aumentan las exigencias de hierro. La disponibilidad de este mineral, que se absorbe en el intestino en su forma reducida (Fe^{2+}), es mayor como carbonato de hierro y sulfato ferroso, y menor en la forma de óxido férrico. Altas cantidades de oxalatos, fitatos, cobre, cobalto, calcio y cadmio interfieren negativamente en la absorción de hierro. El hierro absorbido es transportado por la ferritina hasta el hígado. El hierro se almacena en mayor cantidad en el hígado y los riñones, principalmente unido a las proteínas ferritina y hemosiderina. La ferritina contiene 23% de hierro, mientras que la hemosiderina contiene 37% de hierro. Otros órganos almacenadores son bazo, músculo esquelético, corazón, cerebro y médula ósea. El hierro ligado a ferritina está en forma más soluble y disponible que el hierro ligado a hemosiderina. Cuando las reservas de hierro están bajas aumenta la proporción del mineral almacenado como ferritina, y cuando la cantidad de hierro aumenta la proporción en la hemosiderina también se incrementa. La principal proteína transportadora de hierro en la sangre es la transferrina, la cual lleva el hierro en su forma oxidada (Fe^{3+}). En los tejidos el Fe^{3+} es reducido a Fe^{2+} para formar parte de las metaloproteínas (hemoglobina, ferritina). La mayor parte del hierro se encuentra en la hemoglobina y en las proteínas almacenadoras (ferritina y hemosiderina). El resto se distribuye en los diversos tejidos (**Figura 6.3**).

Deficiencia de hierro

Como la mayoría del hierro en el organismo forma parte de la hemoglobina en los eritrocitos, una deficiencia de este mineral lleva inevitablemente a anemia. Los animales lactantes, especialmente lechones, son los más susceptibles a una eventual deficiencia de hierro en función del bajo nivel de hierro en la leche. Las reservas de hierro en el hígado del neonato alcanzan para dos a tres semanas de vida. En becerros la incidencia de esta carencia puede ser alta, hasta 35%, pues las

necesidades diarias de hierro son de 50 mg y una dieta a base de leche solo suministra 2 a 4 mg. Los animales confinados alimentados con dietas inadecuadas son en especial susceptibles a sufrir deficiencia de hierro. La anemia ferropénica puede cursar con bajo crecimiento y aumento de la susceptibilidad a sufrir enfermedades infecciosas como neumonía y gastroenteritis. La palidez de las mucosas y la pérdida de apetito son signos típicos. En el perfil sanguíneo la anemia es compatible con valores de hemoglobina menores de 8 g/dL y hematocrito menor de 26%. Como tratamiento se debe suplementar a los animales afectados con hierro en la alimentación (30 mg/kg materia seca). Los lechones y otros animales lactantes deben ser medicados con inyección de hierro intramuscular, generalmente como ferrodextrano. En el diagnóstico diferencial se deben considerar otras causas de anemia diferentes a la falta de hierro, tales como la hemoglobinuria del posparto, infestaciones parasitarias e intoxicación con plantas crucíferas (repollo, col).

Toxicidad del hierro

Se cree que el hierro es el mineral más preocupante en términos de exceso que de deficiencia, pues en general su presencia en las plantas forrajeras puede ser alta, supliendo las necesidades de los animales. El exceso de hierro puede causar deficiencia condicionada de otros elementos esenciales (cobre y zinc) por el efecto antagónico en el proceso de absorción en el duodeno. Su principal efecto deletéreo sería la formación de un complejo insoluble con el fósforo en el rumen y la formación de hemosiderina en el hígado y el bazo en dietas deficientes de cobre.

Zinc

Metabolismo

El zinc participa como cofactor o activador de varias enzimas, principalmente DNA y RNA polimerasas, interviniendo por tanto en procesos de proliferación celular y síntesis de proteínas. También actúa como cofactor de anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina, alcohol deshidrogenasa, catalasa, timidina quinasa y carboxipeptidasa pancreática, entre otras. La participación del zinc en la actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa en la retina tiene que ver con la normal función de la vitamina A, pues cataliza la conversión de retinal en retinol, afectando la función visual. El zinc, como constituyente de la anhidrasa carbónica, actúa en el equilibrio ácido-básico y la calcificación de los huesos; en las aves, para la formación de la cáscara del huevo. El zinc participa en la producción, almacenamiento y secreción de algunas hormonas, tales como insulina, testosterona y cortisol, además de activar sus sitios receptores en las células-blanco. Otra función del zinc está relacionada con la integridad del sistema inmunológico, principalmente por su participación en la proliferación de linfocitos.

La absorción de zinc ocurre en el rumen y, en animales monogástricos, en el duodeno. La cantidad absorbida es menor en los monogástricos (7-15%) que en los rumiantes (20% - 40%), y puede ser afectada debido a la interacción ejercida por otros elementos, como calcio, hierro y cobre. La absorción de zinc es favorecida por el magnesio, los fosfatos y la vitamina D. El exceso de ácido fítico, presente sobre todo en las forrajeras, en los cereales y en las semillas de oleaginosas (soya, algodón), disminuye la absorción del mineral a causa de formarse un complejo insoluble de fitato de zinc, lo cual puede causar deficiencia. Las dietas a base de concentrados por lo general contienen suficiente zinc para garantizar los valores nutricionales óptimos, o sea, 40 ppm en los terneros y 90 ppm en

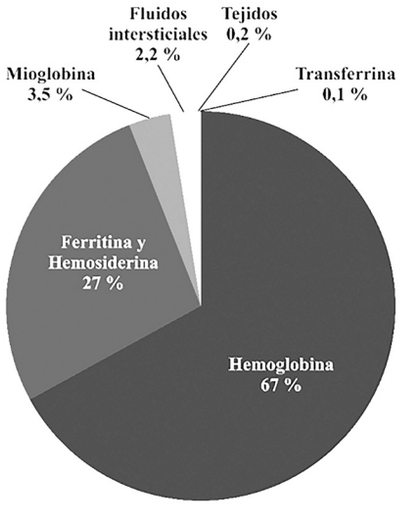


Figura 6.3. Distribución porcentual del hierro en mamíferos

Tanto la ferritina como la hemosiderina son proteínas de almacenamiento de hierro; la primera se encuentra en el hígado y la médula ósea, y la segunda en el bazo, el hígado y el sistema retículo-endotelial. El hierro de los tejidos está presente sobre todo en los citocromos y en enzimas.

vacas en producción. Alimentos especialmente ricos en zinc son los cereales, harina de huesos y melaza; por su parte, los pastos son generalmente deficitarios en el mineral, siendo recomendada su suplementación en animales en pastoreo. Es interesante que nunca ocurre deficiencia de zinc cuando se usan tubos y tanques galvanizados para la distribución de agua.

Órganos abundantes en zinc son la piel, las gónadas y el páncreas endocrino. El zinc se encuentra en el plasma, de forma libre o unida a proteínas (albúmina y α2-macroglobulina). El nivel sanguíneo referencial está entre 80 y 120 µg/dL, su umbral indicador de deficiencia es 70 µg/dL. Un indicador alternativo para evaluar el estatus de zinc es la metalotioneína, proteína sintetizada por el hígado a la que el zinc se une ávidamente a través de sus numerosos residuos de cisteína. La metalotioneína parece servir no solo como almacenadora de zinc, sino también como detoxificante por unir cadmio, mercurio y otros metales pesados. El zinc parece tener un control homeostático bastante eficiente, mediante diferencias en la tasa de absorción en el intestino, la cual puede aumentar a 100 % en situaciones de deficiencia. La capacidad de almacenamiento de zinc en el hígado y en los huesos es limitada y contribuye poco para la homeostasis. La excreción de zinc es hecha principalmente por las heces (secreción pancreática, biliar y gastrointestinal), con pequeñas cantidades eliminadas por la orina y la leche.

Se ha mencionado que la fotosensibilización causada en bovinos por toxinas ligadas al hongo *Pithomyces chartarum* (esporodesmina), presente en especies del pasto *Braquiaria*, responde al tratamiento con zinc, sin que se haya esclarecido este efecto. La suplementación de zinc puede ser realizada empleando compuestos químicos (carbonato, sulfato, cloruro u óxido).

Deficiencia de zinc

La deficiencia de zinc está relacionada con la presentación de varios signos: (a) bajo crecimiento, por su participación en la proliferación celular y síntesis de proteínas; (b) cicatrización retardada; (c) infertilidad, tanto en machos por falla en la espermatogénesis, como en hembras por trastornos de la ovulación y en la supervivencia embrionaria; (d) disminución de la competencia inmunológica por falla en la respuesta de las células T (producción de inmunoglobulinas); (e) paraqueratosis, con engrosamiento y heridas en la piel, especialmente de las rodillas y la ubre, considerado signo característico de la deficiencia de zinc, particularmente en cerdos; (f) alopecia, despigmentación del pelo y pérdida de lana; (g) falla en el crecimiento de cascos y cuernos, con lesiones, deformaciones, laminitis y claudicaciones; (h) disminución de la síntesis de proteínas plasmáticas que causa hipoalbuminemia e hipoglobulinemia; (i) inflamación de las articulaciones; (j) aumento de la mortalidad posnatal, sobre todo en lechones; (k) en aves, disminución en la eclosionabilidad de los huevos y en la supervivencia de pollitos, así como presencia de deformidades en los embriones; (l) caída de la producción de leche.

Toxicidad del zinc

En la mayoría de las especies la toxicidad por zinc aparece cuando la dieta contiene niveles por encima de 1.000 ppm. Las especies más tolerantes son cerdos, aves, bovinos y ovinos. Las causas de intoxicación por zinc incluyen masticación de barras galvanizadas, ingestión de fungicidas o uso excesivo de suplementos de zinc. El contenido de calcio, cobre, cadmio, selenio, manganeso y hierro en el alimento influye en el efecto tóxico del zinc por interferir en su absorción intestinal. El exceso de zinc puede desplazar el cobre del hígado y causar deficiencia de ese mineral, pero también evitar el efecto tóxico del cobre en intoxicaciones, principalmente en ovinos. En perros y gatos se ha observado toxicidad por la ingestión de monedas, observándose vómito, anorexia, anemia y alteraciones pancreáticas.

Cobre

Metabolismo

El cobre es un componente importante en algunas metaloproteínas, muchas de las cuales son enzimas vitales, como citocromo-oxidasa, monoamino-oxidasa (MAO), galactosa-oxidasa, tirosinasa, uricasa, catalasa y DOPA-oxidasa; casi todas participan, por tanto, en reacciones de óxido-reducción. El cobre también participa en la hematopoyesis por favorecer la absorción intestinal de hierro, así como su movilización. La pigmentación de pelos y lana depende del cobre, debido a ser cofactor en la acción enzimática de la polifenol-oxidasa, enzima que cataliza la formación de melanina

a partir de tirosina. El cobre participa, además, en la mineralización de los huesos, la formación e integridad del sistema nervioso central y la manutención de la estructura del miocardio.

En la mayoría de las especies la tasa de absorción de cobre por el intestino es baja, de 5% - 10% en adultos y de 15% - 30% en jóvenes. Como en el caso del zinc, la tasa de absorción está influenciada por la necesidad del organismo, la forma química del elemento y la cantidad de otros minerales, que pueden ejercer efecto antagónico. En ese sentido, el molibdeno es un importante factor en el caso del cobre. Niveles a partir de 10 ppm de molibdeno en el alimento causan interferencia en la absorción intestinal de cobre. La relación Cu/Mo ideal para evitar interferencias es de 4. El azufre inorgánico, el exceso de aminoácidos sulfurados, así como el exceso de calcio y de proteína total, también limitan la absorción de cobre. El lugar de mayor concentración de cobre en el organismo es el hígado, disminuyendo con la edad. Los ovinos constituyen una excepción, pues la concentración de cobre hepático aumenta con la edad. El cobre es transportado desde el hígado a los órganos periféricos por la ceruloplasmina, α-globulina plasmática que contiene una porción oligosacarídica a la cual se une el cobre en sus dos formas de oxidación (Cu^{+} y Cu^{2+}). La ceruloplasmina actúa como almacenadora y transportadora para mantener la homeostasis del cobre. La concentración de referencia del cobre en la sangre es de 80-120 µg/dL. Un nivel de cobre menor de 50 µg/dL es indicador de deficiencia. La ceruloplasmina plasmática o de la enzima superóxido dismutasa de los eritrocitos, que poseen alta correlación con los niveles de cobre sanguíneos, también son usadas para detectar estados carenciales. El cobre se excreta sobre todo en las heces, a partir de la fracción no absorbida, y secundariamente por vía biliar. La excreción por la orina es muy pequeña.

Deficiencia de cobre

El cobre es necesario para la síntesis de hemoglobina, junto con el hierro, además de participar en la absorción intestinal y en la movilización de este mineral. La deficiencia de cobre causa anemia de tipo hipocrómico. En muchos casos la deficiencia es insidiosa, o sea, clínicamente silente, causando pérdidas en la producción e infertilidad. Como el cobre ejerce una importante función en el sistema citocromo-oxidasa, su deficiencia causa trastornos en el metabolismo oxidativo, lo cual puede manifestarse de múltiples formas, entre otras por pérdida de la condición corporal, crecimiento retardado, caída de la producción y mala absorción intestinal que lleva a diarrea, constituyéndose este en un signo típico de deficiencia. La función del cobre en la osteogénesis hace que ante una deficiencia ocurra depresión del metabolismo de los osteoblastos con crecimiento defectuoso de los huesos, claudicaciones y osteoporosis. El papel del cobre en la síntesis de melanina y de tejido conjuntivo lleva, en la carencia del mineral, a trastornos en la piel como aspereza, alopecia, pérdida de pigmentación del pelo (acromotriquia) y pérdida de ondulación de la lana. En casos graves la deficiencia de cobre en bovinos puede llevar a degeneración del miocardio por falla en la oxidación del tejido cardiaco, que causa degeneración fibrosa progresiva y puede llevar a muerte súbita. En carneros jóvenes la deficiencia de cobre causa falla en la mielinización de las neuronas debido a disminución en la síntesis de esfingolípidos, lo cual provoca incoordinación y problemas para caminar (ataxia). En potros neonatos de madres con deficiencia de cobre se ha observado osteodisgénesis, un trastorno relacionado con mala formación de los huesos que causa claudicación e inflamación de las articulaciones de los miembros.

La deficiencia de cobre ha sido detectada en muchos países. Por lo general pastos con menos de 3 ppm de cobre pueden desencadenar deficiencias, lo que podría verse agravado si hay exceso de molibdeno, azufre, hierro, calcio o proteínas. Dietas a base de concentrados tienen suficiente cantidad de cobre para evitar deficiencias. Después del fósforo y del sodio, la deficiencia de cobre es la más severa limitación en animales a pasto. Cuando existen riesgos de deficiencia de cobre resulta útil suplementar preventivamente a fin de garantizar una concentración de 10 mg cobre/kg MS, en la forma de sulfato de cobre, teniendo precaución de evitar sobredosificación, a veces fatal, especialmente en ovejas, que son animales más sensibles al exceso de este mineral. En casos de deficiencia con signos clínicos manifiestos lo mejor es administrar el cobre por vía parenteral.

Toxicidad del cobre

La intoxicación con cobre puede ocurrir no solo por su administración exagerada para prevenir deficiencias, sino también por otras causas, tales como consumo de plantas retentivas de cobre (*Heliotropum europeum*, *Senecio* spp., *Echium plantagineum*), fármacos

antifungicidas y antiparasitarios, sustancias usadas para erradicación de caracoles (malacocidas) y por contaminación industrial. Las ovejas son la especie más susceptible de sufrir intoxicación con cobre, que ocurre incluso en animales en pastoreo con altos índices de cobre y bajos de molibdeno en el suelo. El consumo excesivo de cobre lleva a su acumulación en los tejidos, principalmente en el hígado, sin que se observen signos clínicos. En situaciones de estrés, y cuando el hígado agota su capacidad de almacenamiento, el cobre es liberado rápidamente a la sangre, causando una crisis hemolítica, caracterizada por hemoglobinuria, ictericia y hemorragias generalizadas. La necropsia revela siempre necrosis hepática severa. Otros signos observados en la intoxicación con cobre, además del daño hepático, son gastroenteritis severa con dolor y diarrea debido a la irritación de las mucosas, hipotermia, aumento de la frecuencia cardiaca, colapso y muerte en veinticuatro horas.

El molibdeno puede ayudar en los casos de intoxicación por cobre, al disminuir su absorción, administrado de forma oral como molibdato de amonio (100 mg/animal) junto con sulfato de sodio (1 g/L de solución), o lo que es mejor, en forma intravenosa como tetratiomolibdato de amonio.

Yodo

Metabolismo

El metabolismo del yodo está estrechamente relacionado con la tiroides, por ser el único órgano que puede acumular yodo en altas cantidades e incorporarlo en las hormonas tiroidianas (HT). De hecho, la única función fisiológica del yodo es como componente de las HT. Aunque el yodo en circulación es captado casi exclusivamente por la tiroides, otros tejidos pueden también concentrar yodo, como la glándula mamaria, la placenta, las glándulas salivares y el estómago. La relación entre yodo y bocio en humanos y animales fue observada desde el siglo pasado, cuando fue constatado que el yodo prevenía y curaba el problema, y que la incidencia de bocio endémico estaba inversamente relacionada con los niveles de yodo en el suelo y en el agua, aunque en aquel momento no fuesen conocidas la estructura ni la función de las hormonas tiroidianas.

Las plantas marinas son buenas fuentes de yodo, pero las terrestres no lo contienen, de ahí la existencia de amplias regiones del planeta deficientes en yodo y que constituyen áreas con riesgo de bocio. Actualmente, con la yodación de la sal, es menos frecuente encontrar bocio en animales y humanos. El yodo debe ser incorporado en la sal, en proporción de 10 a 100 ppm. No obstante, las principales fuentes del elemento (yoduros de potasio, sodio y calcio) pueden ser lixiviadas y evaporadas en la mezcla de sal, en condiciones de temperatura y humedad elevadas. De esa forma no sería raro observar deficiencias de yodo por disminución de la concentración de este elemento en la sal. Generalmente la cantidad diaria recomendada de yodo en la dieta es de 35 mg/kg de peso corporal para adultos, y de 70 mg/kg de peso para neonatos. La leche no es fuente adecuada de yodo, contribuye con apenas el 5 % de los requerimientos. La absorción intestinal de yodo es eficiente en cualquiera de las formas del mineral. El yodo puede estar en las formas de yoduro inorgánico (I^-), que es la más común, de yodato (IO_4^-), o bien unido a formas orgánicas. En la vaca el 80 % del yodo ingerido es absorbido en el rumen y 10 % en el omaso. Aproximadamente 25 % a 30 % del yodo ingerido en la dieta es captado por la tiroides, donde ingresa mediante un mecanismo activo (bomba de yodo). El proceso de captación de yodo en las células foliculares de la tiroides es catalizado por una enzima que requiere O_2, proceso en el cual participa una Na-K-ATPasa dependiente de ATP. La captación del yodo en la tiroides mediante la bomba de yodo es estimulada por la TSH e inhibida por determinados iones que compiten con el yoduro, como el tiocianuro (SCN^-), el perclorato (ClO_4^-) y el nitrato (NO_3^-). Esa inhibición puede ser revertida con altas dosis de yodo. Sin embargo, en condiciones normales, el exceso de yodo puede también inhibir la captación de yodo por la tiroides. Las células foliculares tienen alta capacidad de hipertrofia compensatoria cuando hay deficiencia de yodo, y pueden en este caso desarrollar bocio. La eficiencia de captación de yodo por parte de la tiroides es el fundamento de la prueba de fijación de yodo radiactivo (^{131}I) usada para evaluar la función tiroidiana. En aproximadamente 48 horas cerca de 40 % del yodo administrado de manera endovenosa requiere estar fijado en la tiroides normal.

La tiroides debe oxidar el yoduro, etapa obligada para la organificación del yodo, o sea, la incorporación de yodo en formas orgánicas en las hormonas tiroidianas. Los niveles de yodo orgánico en la tiroides son muy variables, de 10 a 40 mg/100 g de tejido. El yodo orgánico se halla presente en forma de monoyodotirosina (MIT), diyodotirosina (DIT), triyodotironina

(T_3) y tiroxina (T_4). La oxidación del ion yoduro se realiza por la enzima peroxidasa, que contiene un grupo hemo y requiere peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como agente oxidante. El H_2O_2 es producido por una enzima NADPH-dependiente. El proceso de oxidación del yoduro es estimulado por la TSH e inhibido por compuestos tirotóxicos, como tiourea y tiouracilo. El producto de la oxidación es un radical libre (I•), que se une casi instantáneamente a los residuos fenilo de las tirosinas de la tiroglobulina en las posiciones 3 y 5, para formar MIT o DIT. Las yodaciones no causan la separación de los residuos de Tyr en sus uniones a la proteína.

La relación de yodo en tiroides/plasma es de 20, pero puede ir hasta 500 por estímulo de la TSH, o caer a 1 por acción de los inhibidores tiroidianos, que compiten con el yodo por los mecanismos de transporte. En la sangre el yodo circula libre o unido a proteínas. En niveles normales de ingestión de yodo la concentración de yoduro inorgánico en el plasma del perro es de 5 a 10 µg/dL. El exceso de yodo se excreta principalmente por la orina o la leche. Pequeñas cantidades pueden ser excretadas vía saliva, lágrimas y sudor. En los rumiantes las heces sirven de significativa vía de excreción del yodo.

Para evaluar el estatus de yodo en el organismo pueden ser medidos sus niveles en la sangre con método potenciométrico o químico, en la orina o en la leche. Se considera que en la vaca niveles de yodo en la leche por debajo de 8 µg/dL son indicadores de deficiencia. En el plasma del cerdo el umbral indicador de deficiencia es 2 µg/dL. En la orina de vacas y cerdos, valores de yodo menores de 20 µg/dL, son indicadores de deficiencia. Una forma alternativa de evaluar el equilibrio del yodo es a través de la medición de las hormonas tiroidianas en el plasma.

Deficiencia de yodo

La deficiencia de yodo causa disminución en la actividad de la tiroides y, en casos avanzados, bocio. Los signos de la falta de yodo son compatibles con hipotiroidismo primario. Clínicamente los signos del hipotiroidismo revelan disminución de la tasa metabólica. El animal aumenta de peso, se observa inactivo, incoordinado, letárgico y con problemas de soportar el frío, por lo cual busca lugares calientes. También se puede observar pérdida de pelo y, en algunos casos, alopecia simétrica bilateral, hiperqueratosis e hiperpigmentación sobre todo en las áreas de alopecia, disminución de la frecuencia cardiaca, anemia y, en el hipotiroidismo crónico, mixedema (acumulación de mucina en la epidermis). La mucina provoca acumulación de agua y engrosamiento de la piel, especialmente evidente en el rostro y la cabeza. También se observa disminución de la libido y en la concentración espermática de los machos. En las hembras pueden ocurrir trastornos en los ciclos estrales, tales como anestro y aciclia, con disminución de la tasa de concepción. En algunos casos se aprecia estreñimiento con producción de heces duras y secas. Los niveles plasmáticos de las hormonas tiroideas descienden, en el caso de la T_4, a menos de 8 ng/mL y, en la T_3 por debajo de 0,5 ng/mL.

El bocio es la hiperplasia con dilatación no neoplásica ni inflamatoria de la tiroides. Puede ser observado en todos los mamíferos y aves, siendo causado por: (a) deficiencia de yodo, (b) ingestión de sustancias bociógenas, (c) exceso de yodo en la dieta, o (d) trastornos genéticos de enzimas en la vía de biosíntesis de las hormonas tiroideas. Todas estas causas disminuyen la secreción de esas hormonas, lo que lleva a una elevada secreción compensatoria de TSH por la hipófisis, provocando hiperplasia e hipertrofia de las células foliculares de la tiroides. La principal causa de bocio es la deficiencia de yodo, pero las sustancias bociógenas contenidas en algunos alimentos son también causas importantes. Las sustancias bociógenas o antitiroideas son aquellas que alteran la síntesis, liberación o acción de las hormonas tiroideas. Los tiocianuros son producidos en el rumen por la digestión de plantas con glucósidos cianogénicos (trébol blanco, sésamo, soya). Las plantas crucíferas del género *Brassica* (repollo, col, brócoli) contienen goitrina (5-viniloxazolidina-2-tiona), sustancia bociógena o antitiroidea derivada de los glucosinolatos de estas plantas, que inhibe la organificación del yodo, o sea, el enlace del yodo en los residuos de tirosina de la tiroglobulina. Otras plantas como la leguminosa *Leucaena leucocephala* contienen mimosina, aminoácido tóxico para la tiroides.

Exceso de yodo

En la alimentación el exceso de yodo puede ocurrir por consumo de algas secas y puede causar bocio, pues interfiere en la biosíntesis de las hormonas tiroideas al inhibir la proteólisis de la tiroglobulina en los lisosomas. El exceso de yodo también inhibe la peroxidación del

yoduro (I^-) y la conversión de MIT en DIT durante la síntesis de las hormonas tiroideas. En veterinaria son frecuentes intoxicaciones con yodo por exceso de aplicaciones de antisépticos yodados, tales como el EDDI (diidro-diamino-etilen-iodo), usados en la prevención de actinomicosis y pudrición del casco, en la desinfección de los pezones en vacas lecheras, y en lavado de utensilios y de tanques resfriadores de almacenamiento de leche.

Manganeso

Metabolismo

El manganeso (Mn) actúa como cofactor enzimático en las vías relacionadas con síntesis de ATP, tanto en el ciclo de Krebs como en la fosforilación oxidativa, participando también en las reacciones de la fosfatasa alcalina y la piruvato oxidasa. Además, es activador de enzimas, como arginasa, tiaminasa, enolasa y dipeptidasas intestinales. El magnesio, catión bivalente, puede sustituir parcialmente el manganeso con poco o ningún perjuicio de la actividad enzimática. El manganeso es esencial en el desarrollo de la matriz orgánica de los huesos, compuesta básicamente por mucopolisacáridos. Cuando ocurre deficiencia de manganeso el sulfato de condroitina, de los cartílagos epifisiarios, disminuye acentuadamente, quizás por falla en la activación de las enzimas glucosiltransferasas, participantes en la síntesis de polisacáridos y glucoproteínas. El manganeso parece estar relacionado con el desarrollo de órganos genitales y el funcionamiento del cuerpo lúteo; asimismo, participa en la síntesis de colina y de colesterol.

El manganeso es único en el sentido de que se absorbe muy poco, no más del 1% en el intestino, y tiene niveles sanguíneos muy bajos (1 µg/L). Su absorción puede ser disminuida por niveles elevados de calcio y fósforo. Su transporte en la sangre es realizado principalmente por la transferrina y su distribución es mayor en huesos, hígado, riñones y páncreas. Las reservas corporales son bajas; ante un exceso de manganeso en la dieta, disminuye la eficiencia de absorción y aumenta la excreción, sobre todo en las heces (98%).

Deficiencia de manganeso

El nivel de manganeso considerado apropiado en los alimentos es de 50 ppm. Puede ocurrir deficiencia en suelos pobres en manganeso (menor que 3 ppm), situación que se agrava en suelos alcalinos y con altos niveles de calcio, hierro y fósforo. La deficiencia de manganeso es difícil de detectar, pero puede causar reducción del crecimiento y problemas de infertilidad, básicamente por falla en la concepción, ovarios subdesarrollados, trastornos del estro y disminución de la supervivencia embrionaria. En los terneros neonatos la deficiencia de manganeso se manifiesta como inflamación y deformaciones en las articulaciones, bajo peso corporal y aumento de la mortalidad. Las aves son consideradas más susceptibles a la deficiencia de manganeso que los mamíferos por tener mayor requerimiento de este mineral. En pollitos la deficiencia de manganeso ocasiona una condición denominada perosis, caracterizada por mala formación de la articulación tibiometatarsiana con acortamiento del tendón de Aquiles, haciendo que la porción final de la tibia y la porción proximal del tarsometatarso escapen de la articulación de los cóndilos y causen la torsión del miembro posterior. En aves ponedoras la deficiencia de manganeso se manifiesta por caída en la producción y eclosionabilidad y disminución en la calidad de la cáscara. Las sales de manganeso son de bajo costo y pueden ser suplementadas en la forma de cloruro, sulfuro, carbonato, y como dióxido de manganeso.

Toxicidad del manganeso

Los niveles máximos de manganeso tolerables en los animales se sitúan entre 400 y 2.000 ppm, siendo más tolerantes los pollos y más sensibles los cerdos y conejos. Con más de 2.000 ppm se observa depresión del apetito, crecimiento retardado, anemia, lesiones gastrointestinales y signos neurológicos.

Cobalto

Metabolismo

El valor del cobalto en los animales es como componente en la estructura de la vitamina B_{12} (cianocobalamina), de la cual constituye el 4%. Esa vitamina es precursora de la coenzima B_{12}, importante cofactor enzimático que participa en reacciones del metabolismo del ácido propiónico. En rumiantes esta ruta metabólica es de gran valor, pues constituye la fuente más importante de glucosa vía gluconeogénesis. La coenzima B_{12} participa en la conversión de metilmalonil-CoA en succinil-CoA, reacción catalizada por la enzima metilmalonil-CoA isomerasa. La vitamina B_{12} también participa en la formación de los eritrocitos, tomando

parte en la síntesis de la protoporfirina. En los rumiantes la fuente de vitamina B_{12} son los microorganismos del rumen, siempre que haya suficiente cobalto disponible en la dieta. La vitamina se absorbe fácilmente en las paredes del rumen.

Deficiencia de cobalto

En muchas partes del planeta existe deficiencia de cobalto, aunque sea difícil de detectar debido a la falta de un método rutinario, rápido y barato para la medición de este metal, el cual se determina por espectrofotometría de absorción atómica o, indirectamente, por determinación de la vitamina B_{12} en la sangre mediante radioinmunoensayo. Otro método indirecto para detectar estados deficitarios es mediante la determinación de ácido metilmalónico en la orina, pues este metabolito se acumula, excretándose por el riñón cuando falta la vitamina B_{12}. El pasto se considera deficitario con concentraciones de cobalto inferiores a 0,08 ppm, o cuando el suelo tiene menos de 0,25 ppm. La situación se complica en suelos alcalinos porque el pH elevado interfiere con la absorción de cobalto por la planta. El exceso de manganeso en el suelo también actúa como inhibidor de la disponibilidad de cobalto por las plantas. Los niveles sanguíneos normales de cobalto son del orden de 300 a 400 µg/mL. Niveles menores de 250 µg/mL indican deficiencia.

La carencia de cobalto en rumiantes reúne una serie de signos clínicos que han sido integrados en la definición de 'marasmo enzoótico'. En los monogástricos no se muestra con claridad deficiencia de cobalto, ya que en estos animales la carencia más común es de vitamina B_{12}, la cual precisa, para ser absorbida en el intestino, la participación de una proteína transportadora en el estómago conocida como factor intrínseco. Los animales con deficiencia de cobalto/vitamina B_{12} sufren anemia, hipoglucemia, caída de la producción, pérdida de apetito, piel y pelaje áspero, emaciación, letargo, infertilidad y cetosis. Los terneros de vacas deficientes en cobalto nacen débiles y mueren a los pocos días. El tratamiento de los rumiantes consiste en la suplementación adecuada de cobalto por vía oral, de forma que se garantice un nivel de 0,1 ppm en la materia seca. La administración parenteral de cobalto es ineficaz para el tratamiento de la deficiencia. En los monogástricos, y en algunos casos de rumiantes, puede ser necesaria la inyección intramuscular de vitamina B_{12}.

Selenio

Metabolismo

Los límites entre niveles esenciales y tóxicos del selenio (Se) son bastante estrechos, pero la esencialidad de este elemento fue reconocida desde 1957 como factor preventivo de la degeneración del hígado en ratas, la diátesis exudativa de los pollitos y la distrofia muscular de terneros y corderos. Junto con la vitamina E el selenio tiene función protectora antioxidante de las membranas plasmáticas contra la acción tóxica de los peróxidos lipídicos (peroxidación de los ácidos grasos insaturados ligados a fosfolípidos de membrana). El selenio participa como componente de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), presente en gran cantidad en los eritrocitos. El contenido de selenio en el organismo está positivamente relacionado con la actividad de la GSH-Px en la sangre. Niveles sanguíneos menores de 200 mU/L de la enzima indican deficiencia de selenio. El selenio también participa como cofactor de las enzimas deshidrogenasa fórmica, glicina reductasa y deyodasa (que convierte la hormona T_4 en T_3 en las células-blanco). La vitamina E limita la peroxidación de los ácidos grasos insaturados. El selenio presenta interacción con esta vitamina en cuanto a su efecto con los aminoácidos sulfurados, vía cistina-glutatión, aunque el mecanismo bioquímico no esté esclarecido. En algunos casos la vitamina E reduce la necesidad de selenio y viceversa. La absorción de selenio en los rumiantes es menor que en los monogástricos, debido a la reducción de las formas biológicamente activas en el rumen. La excreción de selenio es principalmente vía fecal, seguida de las vías urinaria, biliar, salivar y pulmonar. En la leche también aparece selenio.

Deficiencia de selenio

Muchos suelos, en especial los derivados de rocas ígneas (volcánicas) y los suelos ácidos, son deficientes en selenio. La concentración de selenio en las plantas por debajo de 0,1 ppm es considerada crítica para que ocurran casos clínicos de deficiencia, causando la llamada distrofia muscular enzoótica o enfermedad del músculo blanco. La deficiencia de selenio/vitamina E provoca la acumulación de peróxidos en las membranas celulares y causa necrosis, con posterior fibrosis y calcificación, principalmente en los músculos esquelético y cardiaco. El consumo de ácidos grasos insaturados (de aceites vegetales) y la deficiencia de vitamina E pueden

precipitar el problema. Además, el almacenamiento de cereales húmedos o tratados con ácido propiónico en silos causa destrucción de la vitamina E. Los animales más afectados son las aves, las ovejas y los rumiantes jóvenes de crecimiento rápido. A veces puede acontecer muerte súbita debida a lesiones en el músculo cardiaco (distrofia y calcificación en el miocardio). De forma menos aguda, puede ocurrir caída de la producción, disminución del crecimiento, diarrea, degeneración muscular con claudicación y decúbito. También se observa edema, principalmente en el mesenterio, pulmón y tejido subcutáneo. La mayor incidencia de retención placentaria ha sido descrita en vacas como efecto de la deficiencia de selenio, respondiendo adecuadamente a la suplementación con selenio/vitamina E. Existen evidencias de que el selenio y la vitamina E mejoran la inmunocompetencia, lo cual se ha demostrado por el aumento de producción de inmunoglobulinas. En vacas lecheras la deficiencia de selenio/vitamina E predispone a sufrir síndrome de hígado graso, tal vez debido al daño sobre las membranas de los hepatocitos causado por los peróxidos.

En la deficiencia de selenio, además de disminución en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) medida en los eritrocitos, el perfil sanguíneo muestra aumento en la actividad de las enzimas indicadoras de daño muscular, principalmente creatina quinasa (CK) y aspartato aminotransferasa (AST). El nivel adecuado de selenio en el alimento está alrededor de 0,1 ppm. La concentración de selenio en la sangre varía en función de la especie: en caballos es de 26 µg/mL, en ganado de carne puede estar entre 19 y 48 µg/mL, en ovejas el nivel mínimo de normalidad se sitúa en 0,1 µg/mL, mientras que niveles por debajo de 0,05 µg/mL en sangre son compatibles con signos de deficiencia. El tratamiento de la deficiencia de selenio puede incluir la suplementación del mineral en el alimento (0,1 ppm) en la forma de sales inorgánicas (selenito y selenato de sodio) o de formas orgánicas (selenometionina, selenocisteína, selenio-levadura). También se puede administrar en inyección intramuscular (0,1 mg de Se/kg de peso y 70 UI de vitamina E), debiéndose tener cuidado de no provocar intoxicación, pues una dosis de 1 mg/kg de peso (diez veces la dosis indicada) puede ser fatal.

Toxicidad del selenio

En regiones seleníferas ocurre a intoxicación por selenio, conocida como 'enfermedad alcalina' o selenosis. El trastorno se caracteriza por pérdida de los cascos y del pelo, ceguera, marcha tambaleante y muerte. El consumo alto de proteína puede disminuir los efectos tóxicos de una selenosis gracias a la formación de complejos selenio-sulfitos que favorecen la excreción de selenio. El arsénico también favorece la excreción del selenio vía biliar.

Molibdeno

Metabolismo

El molibdeno (Mo) se encuentra en pequeñas cantidades en los tejidos animales: de 1 a 4 ppm en el hígado y 0,1 ppm en el músculo. Su acción bioquímica está relacionada con la acción de algunas enzimas, como xantina-oxidasa, aldehído-oxidasa, sulfito-oxidasa y nitrato-reductasa. La concentración de manganeso en la sangre está en torno de 1 µg/dL. El molibdeno interfiere en la utilización del cobre; entre ellos se ofrecen mutuamente protección contra intoxicaciones de esos elementos. El mecanismo está relacionado con la acción inhibidora del molibdeno sobre la síntesis de ceruloplasmina en el hígado, tornando el cobre no disponible, además de que altas cantidades de molibdeno y de sulfatos reducen la solubilidad y, por tanto, la absorción de cobre en el intestino. Por otro lado, aumentos de cobre en la dieta reducen la deposición de molibdeno en el hígado, e incrementos de sulfato elevan la excreción de molibdeno en la orina, disminuyendo, por tanto, su deposición en los tejidos. La absorción media de molibdeno en el intestino es de 20 % y las reservas en los tejidos son pequeñas, siendo mayores en los huesos y el hígado. La principal vía de excreción del molibdeno es la orina y, en menor medida, la bilis.

Deficiencia de molibdeno

La deficiencia de molibdeno es poco probable en animales debido a que las necesidades del mineral son muy pequeñas (0,2 ppm). No obstante, se ha descrito la deficiencia de molibdeno en ovinos produciendo cálculos renales de xantina. En aves ocurre disminución de la eclosionabilidad y disturbios del plumaje. Una deficiencia de molibdeno puede ocurrir por altos niveles de minerales interferentes, principalmente tungsteno, que es antagónico con el molibdeno, además de cobre y azufre.

Toxicidad del molibdeno

Inicialmente el molibdeno fue considerado un mineral tóxico. Los límites entre toxicidad y necesidad para este mineral son muy estrechos, siendo los ovinos y bovinos las especies más sensibles a altos niveles de molibdeno, y equinos los más resistentes. Pastos con más de 20 ppm de molibdeno pueden provocar signos de intoxicación. Los niveles tóxicos también están relacionados con los niveles de cobre, sulfatos, zinc, plomo y tungsteno en la dieta. Con un aporte suficiente de cobre en la dieta aumenta la tolerancia del organismo a altos valores de molibdeno. Entre los signos de intoxicación por molibdeno están el crecimiento retardado, pérdida de peso e inapetencia. En bovinos se describe diarrea, osteoporosis, tendencia a fracturas, trastornos articulares, falla en la fertilidad, y en machos falta de libido, lesiones testiculares y trastornos en la espermatogénesis.

Otras toxicidades minerales

Toxicidad del plomo

Los casos de intoxicación por plomo están relacionados con el consumo de productos que contengan este mineral. El plomo está presente en productos como baterías, tintas, aceite o grasa de motores o máquinas agrícolas. Esos productos, a veces desechados en las praderas, pueden ser accidentalmente ingeridos por los animales y causar intoxicación. El consumo de pastos contaminados con vapores de industrias que utilizan plomo, o la inhalación de vapores de plomo, también pueden causar la intoxicación. El trastorno ocurre principalmente en bovinos, pero las otras especies domésticas son también sensibles. Los animales más jóvenes son los más afectados debido a su comportamiento curioso, con tendencia a lamer o ingerir objetos extraños. Dependiendo de la forma química del plomo ingerido, una pequeña proporción es absorbida y otra parte excretada por la bilis, la leche o la orina, y los niveles del elemento en estos fluidos, al igual que en sangre, son buen indicador de la cantidad de plomo en los tejidos. La deposición de plomo ocurre principalmente en el hígado, riñón y huesos. Los signos clínicos en bovinos pueden ser agudos o subagudos. En la forma aguda los animales son encontrados muertos o mueren doce-veinticuatro horas después del inicio de la enfermedad. En la forma subaguda el animal sobrevive cuatro a cinco días. Los animales presentan ceguera, temblores musculares, incoordinación, agresividad o depresión, presión de la cabeza contra obstáculos, somnolencia, bruxismo, andar en círculos y convulsiones; puede también observarse anorexia, atonía del rumen, diarrea fétida, salivación y movimientos masticatorios en vacío. En el sistema nervioso central se observan alteraciones degenerativas del córtex cerebral con necrosis de neuronas. En los riñones la presencia de corpúsculos de inclusión en las células epiteliales de los túbulos renales es considerada una alteración característica de la intoxicación.

Toxicidad del arsénico

Actualmente la intoxicación por arsénico es rara debido a que los productos arsenicales dejaron de ser utilizados como antihelmínticos, herbicidas, rodenticidas o garrapaticidas. La toxicidad del arsénico depende de la forma química. Los compuestos arsenicales orgánicos, como el ácido arsanílico utilizado para estimular el crecimiento, causan degeneración de los nervios periféricos y signos nerviosos. Los compuestos inorgánicos actúan sobre el sistema digestivo y, en contacto con la piel, son absorbidos y causar intoxicación sistémica o lesiones en la piel. Los arsenicales inorgánicos pueden ocasionar intoxicación aguda, subaguda o crónica. En la forma aguda los animales presentan diarrea severa, atonía ruminal, dolor abdominal y depresión, muriendo tres-cuatro días después de observarse estos signos. En la intoxicación subaguda los signos son similares, pero el curso clínico es de dos-siete días y se aprecian signos nerviosos y deshidratación. En los casos crónicos hay pérdida de peso y lesiones de piel caracterizadas por dermatitis crónica, necrosis y pérdida del epitelio. La forma de intoxicación crónica se caracteriza por perforación del abomaso y de la pared abdominal.

6.4 Bibliografía

Abd-Allah, S. M., y Bakr, H. A. (2015). Serum parathyroid hormone levels and mineral profiles in high producing dairy cattle around calving period. *British Journal of Dairy Sciences, 4*, 1-4.

Ammerman, C. B., y Henry, P. R. (1987). Deficiencias minerales de los rumiantes en pastoreo en América Latina. En J. P. Puignau, *Reunión sobre determinación de carencias y suplementación mineral de bovinos* (pp. 83-90). Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico del Cono Sur. Montevideo, Uruguay.

Barcellos, J. O. (1998). O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte. En F. H. D. González, H. O. Patiño, y J. O. Barcellos, *Nutrição mineral em ruminantes* (pp. 23-67), 2.ª ed. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Barros, C. S., Barros, S. S., Santos, M. N., y Metzdorf, L. L. (1988). Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras., 8*, 51-55.

Block, E. (1984). Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J. Dairy Sci., 67*, 2939-2948.

Bondan, E. F., Riet-Correa, F., y Giesta, S. M. (1991). Níveis de cobre em fígados de bovinos no Sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras., 11*, 75-80.

Bouda, J., Núñez, L., y Quiroz-Rocha, G. (2000). Interpretação dos perfis de laboratório em bovinos. En F. H. D. González, J. B. Borges, y M. Cecim, *Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos* (pp. 19-22). Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Brasil (1973). *Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul.* (pp.267-269). Recife, Brasil: Ministério da Agricultura.

Cavalheiro, A. C., y Trindade, D. S. (1992). *Os minerais para bovinos e ovinos criados em pastejo*. Porto Alegre, Brasil: Sagra-DC Luzzato.

Ceballos, A., Wittwer, F. G., Contreras, P. A., Quiroz, E., y Böhmwald, H. L. (1999). Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq. Agropec. Bras*., *34*, 2331-2338.

Ceballos, A., y Wittwer, F. G. (1996). Metabolismo del selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet., 28*, 5-17.

Corah, L. (1996). Trace mineral requirements of grazing cattle. *Animal Feed Science and Technology, 59*, 61-70.

Curtis, C. R., Erb, H. N., y Sniffen, C. J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *JAVMA*, *183*, 559-561.

Daniel, R. C. (1983). Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia. *Canadian Journal Comparative Medicine, 47*, 276-280.

Daniel, R. C., Kerr, D. R., y Mulei, C. M. (1990). Occurrence and effects of subclinical hypocalcaemia in dairy cows. *Proc. New Zealand Society. Animal Production, 50*, 261-263.

Goff, J. P. (2004). Macromineral disorders of the transition cow. *Veterinary Clinics Food Animal Practice, 20,* 471-494.

Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal, 176,* 50-57.

Goff, J. P. (2014). Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics Food Animal Practice, 30,* 359-381.

González, F. H. D. (2000a). Indicadores sangüíneos do metabolismo mineral em ruminantes. En F. H. D. González, J. O. Barcellos, H. O. Patiño, y L. A. Ribeiro, *Perfil metabólico em ruminantes – Seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (pp. 31-51). Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

González, F. H. D. (2000b). Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. En F. H. D. González, J. O. Barcellos, H. O. Patiño, y L. A. Ribeiro. *Perfil metabólico em ruminantes – Seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (pp. 63-74). Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

González, F. H. D., Conceição, T. R., Siqueira, A. S., y LaRosa, V. L. (2000). Variações sangüíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária, 20*, 59-62.

Grünberg, W. (2014). Treatment of phosphorus balance disorders. *Veterinary Clinics Food Animal Practice, 30,* 383-408.

Herdt, T. H., y Hoff, B. (2011). The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Veterinary Clinics Food Animal Practice, 27*, 255-283.

Hove, K. (1986). Cyclic changes in plasma calcium and the calcium homeostatic and endocrine system of the post parturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, *69*, 2072-2082.

Ingvartsen, K. L. (2006). Feeding and management related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology, 126*, 175-213.

Kehrli, M. E., Goff, J. P., Harp, J. A., Thurston, J. R., y Norcross, N. L. (1990). Effects of preventing periparturient hypocalcemia in cows by parathyroid hormone administration on hematology, conglutinin, immunoglobulin, and shedding of Staphylococcus aureus in milk. *J. Dairy Sci.*, *73*, 2103-2111.

Martin-Tereso, J., y Martens, H. (2014). Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (Dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics Food Animal Practice, 30*, 643-670.

McDowell, L. R. (1999). *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil*. Boletim, 3.ª ed. University of Florida.

Moraes, S. S., Silva, G. N., y Döbereiner, J. (1994). Microelementos minerais e a "Cara Inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras., 14*, 25-33.

Moraes, S. S., Tokarnia, C. H., y Döbereiner, J. (1999). Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras., 19*, 19-33.

Mufarrege, D. J. (1999). El fósforo y la sal en la alimentación de vacunos de carne. En J. O. Barcellos, H. O. Patiño, y E. R. Prates. *1º Encontro anual sobre nutrição de ruminantes da UFRGS – Suplementação mineral de bovinos de corte* (pp. 111-142). São Gabriel, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

National Research Council (1996). *Minerals*, 7.ª ed. Washington, D. C., EE. UU.: National Academic Press.

Nörnberg, J. L. (1998). O sódio na nutrição de ruminantes. En F. H. D. González, H. O. Patiño, y J. O. Barcellos (Eds.) *Nutrição mineral em ruminantes*, 2.ª ed. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Patiño, H. O., Prates, E. R., y Barcellos, J. O. (1999). A suplementação mineral e o desafio de otimizar o ambiente ruminal para digestão de fibra. En J. O. Barcellos, H. O. Patiño, y E. R. Prates. *1º Encontro anual sobre nutrição de ruminantes da UFRGS – Suplementação mineral de bovinos de corte* (pp. 37-60). São Gabriel, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Riet-Correa, F. (2001). Deficiência de cobre. En F. Riet-Correa, A L. Schild, M. D. Méndez, y R. A. Lemos. *Doenças de ruminantes e eqüinos* (pp. 312-320), 2.ª ed. Pelotas, Brasil: Varela.

Riet-Correa, F., Bondan, E. F., Méndez, M. C., Moraes, S. S., y Concepción, M. R. (1993). Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras., 13*, 45-49.

Senger, C. C., Sánchez, L. M., Pires, M. B., y Kaminski, J. (1996). Teores minerais em pastagens do Rio Grande do Sul. I: Cálcio, fósforo, magnésio e potássio. *Pesq. Agropec. Bras., 13*, 897-904.

Senger, C. C., Sánchez, L. M., Pires, M. B., y Kaminski, J. (1997). Teores minerais em pastagens do Rio Grande do Sul. II: sódio, enxofre, zinco, cobre, ferro e manganês. *Pesq. Agropec. Bras., 32*, 101-108.

Sharifi, K., Mohri, M., y Rakhshani, A. (2007). The relationship between blood indicators of phosphorus status in cattle. *Veterinary Clinical Pathology, 36*, 354-357.

Tokarnia, C. H. (1998). Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos criados em regime de campo. En F. H. D. González, H. O. Patiño, y J. O. Barcellos (Eds.), *Nutrição mineral em ruminantes*, 2.ª ed. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Tokarnia, C. H., Döbereiner, J., y Moraes, S. S. (1998). Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras., 8*, 1-16.

Tokarnia, C. H., Döbereiner, J., Moraes, S. S., y Peixoto, P. V. (1999). Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos - revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesq. Vet. Bras., 19*, 47-62.

Trindade, D. S., y Cavalheiro, A. C. (1990). Concentrações de fósforo, ferro e manganês em pastagens nativas do Rio Grande do Sul. *Rev. Soc. Bras. Zoot., 19*, 44-57.

Underwood, E. J., y Suttle, N. F. (1999). *Mineral nutrition of livestock*, 3.ª ed. London, England: CAB International.

Wagemann, C., Wittwer, F., Chihuailaf, R., y Noro, M. (2014). Intervalos de referencia en parámetros sanguíneos indicadores del balance mineral para grupos de vacas lecheras en el sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria, 46*, 121-125.

Wittwer, F. (1998). Estrés oxidativo y selenio en bovinos. En F. H. D. González, H. O. Patiño y J. O. Barcellos (Eds.), *Nutrição mineral em ruminantes*, 2.ª ed. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Wittwer, F., Contreras, P. A., Böhmwald, H., Anrique, R., y Fuchslocher, R. (1998). Concentraciones de zinc y cobre en forrajes y suero sanguíneo de 40 predios lecheros de la X Región-Chile. *Arch. Med. Vet., 20*, 118-125.

Capítulo 7
Bioquímica hormonal

En los mamíferos la integración del metabolismo es realizada por los sistemas nervioso y endócrino; en el primero, la comunicación opera a través de neurotransmisores, tales como noradrenalina, acetilcolina o serotonina, mientras que en el segundo operan mensajeros químicos denominados hormonas, las cuales son transportadas por la sangre hasta su local de acción (órgano-blanco). Estos dos sistemas están interrelacionados, pues el sistema nervioso puede controlar la función endocrina, al tiempo que algunas hormonas controlan funciones nerviosas; por ejemplo, la secreción de insulina, prolactina, adrenalina y glucocorticoides está regulada vía estímulos neurales. Por otra parte, la tiroxina y el cortisol regulan la función de neuronas hipotalámicas en sistemas de regulación *feedback*. Algunos mensajeros químicos son comunes para ambos sistemas, como en los casos de adrenalina y noradrenalina, que funcionan como neurotransmisores en algunas sinapsis del cerebro y el músculo liso, y también como hormonas reguladoras del metabolismo energético en hígado y músculo esquelético. Aunque los sistemas nervioso y endocrino generalmente son estudiados de forma separada en la regulación del metabolismo, actúan de forma integrada en el sistema neuroendocrino. El sistema neuroendocrino constituye la base del control de los otros sistemas, estando, por tanto, estrechamente ligado a los procesos metabólicos de nutrición, crecimiento y reproducción. De forma general, las hormonas son modificadores (moduladores) de las reacciones enzimáticas del metabolismo, participando en funciones específicas, como crecimiento celular y tisular, regulación del metabolismo, regulación de la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea, función renal, eritropoyesis, motilidad del tracto gastrointestinal, secreción de enzimas digestivas y de otras hormonas, lactación y actividad del sistema reproductivo. Las características endocrinas son frecuentemente heredadas, lo que puede ser de utilidad en la determinación de parámetros de selección para mejoramiento en varias especies animales, mediante la medición de los niveles sanguíneos de determinadas hormonas, tales como somatotropina, hormonas gonadotrópicas y esteroides sexuales.

La endocrinología como ciencia tiene poco más de cien años. Antes, los órganos endócrinos eran conocidos, pero no estaban esclarecidas sus funciones ni los mecanismos de control de su secreción. En el **Cuadro 7.1** se presenta una cronología de algunos de los eventos históricos más relevantes en la endocrinología.

7.1 Clasificación química de las hormonas

Actualmente se conocen más de cincuenta hormonas (**Tabla 7.1**) Existen cuatro grupos químicos de hormonas: péptidos, esteroides, aminas y eicosanoides. Cada grupo tiene diferentes características en cuanto a su forma de síntesis, almacenamiento, vida media, forma de transporte en la sangre y mecanismo de acción (**Tabla 7.2**).

Las hormonas peptídicas pueden tener desde tres hasta doscientos residuos de aminoácidos, constituyendo el grupo más numeroso de hormonas. Los principales órganos que producen hormonas peptídicas son el hipotálamo, la hipófisis, los islotes pancreáticos, la placenta, la glándula paratiroides y el tracto gastrointestinal. Actualmente el tejido adiposo también es reconocido como un tejido endocrino, que secreta proteínas llamadas adipocinas, la primera de las cuales en ser descubierta fue la leptina. Las hormonas esteroides son producidas a partir del colesterol, por el córtex adrenal, las gónadas y la placenta, e incluyen los corticoides, los estrógenos, los andrógenos y la progesterona. En este grupo está incluida la vitamina D3 activa (1,25-dihidroxi-colecalciferol). Las hormonas del grupo de las aminas incluyen: (a) las catecolaminas, que son producidas por la médula adrenal y algunas células nerviosas, y (b) las yodotironinas, derivadas del aminoácido tirosina, producidas exclusivamente por la tiroides.

Cuadro 7.1 Cronología de eventos relacionados con endocrinología en general

322 a. C.	Aristóteles describe por primera vez hechos relacionados con la función endocrina y relata los efectos de la castración en las aves y el hombre.
1766	Von Haller propone el concepto "órgano endocrino", en el sentido de un órgano cuya secreción es vertida en la sangre.
1775	Teophile de Bordeu amplía el concepto citado por Von Haller, al proponer que tales secreciones son necesarias para mantener la integridad del organismo. Bordeu cita que los testículos producen una sustancia que se integra al organismo, causándole modificaciones.
1786	Se inicia la endocrinología experimental con John Hunter, quien realiza trasplantes de testículos en aves dentro de la cavidad abdominal para observar posibles cambios en el desarrollo del animal.
1834	Johannes Müller define claramente el concepto de secreciones endocrinas y exocrinas.
1855	Claude Bernard usa el término "secreción interna" para diferenciarla de la "secreción externa". Toma como ejemplo de secreción interna la glucosa secretada por el hígado a la sangre, y como ejemplo de secreción externa la bilis secretada por el hígado al intestino. Bernard propone el concepto de la homeostasis de determinados metabolitos.
1856	Con base en los trabajos de Thomas Addison sobre la asociación de pacientes sufriendo disturbios digestivos, anemia y oscurecimiento de la piel con necrosis o atrofia de las adrenales, el neurólogo franco-británico Charles Brown-Sequard realiza adrenalectomías en perros que resultan en muerte en hasta 72 h, concluyendo que las adrenales secretan "factores sustentadores de vida".
1890	Brown-Séquard, a los 72 años, hace un relato personal de "proezas sexuales rejuvenecidas" después de la inyección subcutánea de extractos de testículos de monos, terapia seguida por miles de hombres. Hoy se cree que la respuesta obedeció a un efecto placebo, pero este episodio fue suficiente para echar a andar el naciente campo de la endocrinología terapéutica.
1900	El conocimiento de la endocrinología comienza sus rápidos avances con Starling y Bayliss, quienes describen la secretina, una sustancia producida en la mucosa intestinal que actúa sobre el páncreas para estimular la secreción de jugo pancreático.
1905	Bayliss y Starling, por sugerencia de Hardy, un estudiante de lenguas clásicas, proponen el término "hormona", del griego 'excitar', definiéndola como la sustancia producida en un órgano endocrino y transportada en la sangre para ejercer su acción en otro órgano. El término fue inicialmente atacado y se sugirieron sustituciones que, finalmente, no lograron éxito.
1906	Pende propone el término "endocrinología" como el área de estudio de las hormonas. El vocablo "endocrino" viene del griego *endo* (dentro) y *krinein* (secretar).

1907	Sajon publica el primer texto de endocrinología.
1909	Parhon y Goldstein publican el segundo libro sobre endocrinología.
1910	Biedl publica el tercer libro sobre endocrinología.
1920	Investigadores norteamericanos obtienen extractos de córtex adrenal relativamente puros que prolongan la vida de animales adrenalectomizados y ejercen efecto benéfico en pacientes con la enfermedad descrita por Addison. La sustancia fue llamada "cortina", después rebautizada como "cortisona".
1921	Banting y Best publican resultados sobre la obtención de extractos de insulina.
1926	Abel aísla en forma cristalina la insulina, siendo así la primera hormona obtenida en forma pura.
1936	El neurocirujano estadounidense Harvey Cushing describe una serie de pacientes con signos clínicos secundarios a la exposición excesiva a corticoides y con tumores hipofisarios, caracterizando lo que se llamó síndrome de Cushing.
1949	Hench utiliza hormonas de forma terapéutica tratando casos de artritis reumatoide con cortisona, hormona del córtex adrenal. Se inicia la carrera de las industrias farmacéuticas para sintetizar esta hormona y otros glucocorticoides relacionados para aplicaciones terapéuticas antiinflamatorias.
1955	Sanger desarrolla la técnica de secuenciación de proteínas aplicándola a la insulina, siendo la primera proteína en tener secuencia determinada.
1977	Somatostatina es la primera hormona en ser producida por la tecnología del DNA recombinante.
1980	La insulina es producida industrialmente mediante tecnología del DNA recombinante.

Los mecanismos de acción de estos dos subgrupos son diferentes: mientras que las catecolaminas comparten mecanismos de acción similares a las hormonas peptídicas, las yodotironinas tienen mecanismos similares a las hormonas esteroides. Finalmente, los eicosanoides incluyen las prostaglandinas, los leucotrienos y los tromboxanos; son hormonas derivadas del ácido araquidónico (C20:4), que se producen en casi todos los tejidos.

7.2 Características de la actividad hormonal

Clásicamente las hormonas se consideran como aquellas sustancias producidas por los órganos endocrinos, o sea, órganos cuya secreción va a la corriente sanguínea, en contraposición a la secreción exocrina, cuyos productos van al exterior del organismo o al tracto gastrointestinal. No obstante, actualmente son también reconocidas como hormonas algunas sustancias secretadas por neuronas, como son los casos de la vasopresina y la oxitocina, secretadas por los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo. Asimismo, son consideradas hormonas algunas sustancias presentes en zonas del cerebro con funciones de neurotransmisores, como las hormonas liberadoras del hipotálamo (GnRH, TRH, CRH, somatostatina) y algunas hormonas de la pituitaria (ACTH, β-endorfinas). Además, diversas hormonas son secretadas por el tejido adiposo, que regulan funciones de células próximas (efecto paracrino), o a distancia (efecto endocrino).

Tabla 7.1 Principales hormonas de los mamíferos

Hormona	Órgano, tejido o célula-blanco	Principal acción
Hipotálamo		
CRH[1]	Adenohipófisis	Liberación de ACTH
GnRH[2]	Adenohipófisis	Liberación de LH y FSH
GRH[3]	Adenohipófisis	Liberación de GH
MIF[4]	Adenohipófisis	Inhibe liberación de MSH
PIF[5]	Adenohipófisis	Inhibe liberación de PRL
PRF[6]	Adenohipófisis	Liberación de prolactina
Somatostatina	Adenohipófisis	Inhibe liberación de GH
TRH[7]	Adenohipófisis	Liberación de TSH
Adenohipófisis		
ACTH[8]	Córtex adrenal	Liberación de glucocorticoides
FSH[9] (hembra)	Folículos ovarianos	Maduración
FSH (macho)	Túbulos seminíferos	Maduración de espermatozoide
Somatotropina	Todas las células	Estimulación de síntesis proteica
LH[10] (hembra)	Ovario	Ovulación y mantenimiento del cuerpo lúteo
LH (macho)	Células de Leydig	Secreción de andrógeno
MRF[11]	Hipófisis (células melanóforas)	Secreción de MSH
Prolactina	Glándula mamaria	Lactación
Neurohipófisis		
ADH[12]	Túbulos renales	Reabsorción de agua
Lipotropinas	Células adiposas	Lipólisis
Oxitocina	Endometrio y miometrio	Estimulación del parto
Hipófisis (pars intermedia)		
MSH[13]	Glándula pineal	Secreción de melatonina
Córtex adrenal		
Glucocorticoides	Todas las células	Gluconeogénesis
Mineralocorticoides	Túbulo renal	Reabsorción de sodio
Medula adrenal		
Adrenalina	Arteriolas, músculos	Contracción
Glándula pineal		
Melatonina	Melanocitos	Pigmentación de la piel (secreción de melanina)
Ovario		
Estrógenos	Órganos sexuales	Ciclicidad ovariana
Progesterona	Útero y glándula mamaria	Mantenimiento de la gestación
Relaxina	Sínfisis pubiana	Relajación del canal del parto
Testículo		
Andrógenos	Órganos sexuales	Desarrollo de los caracteres sexuales
Tiroides		
Calcitonina	Huesos y riñón	Disminución de la calcemia

Hormona	Órgano, tejido o célula-blanco	Principal acción
T_3[14]	Todas las células	Aumento del metabolismo basal
T_4[15]	Todas las células	Aumento del metabolismo basal
Paratiroides		
PTH[16]	Huesos y riñón	Aumento de la calcemia
Páncreas		
Glucagón	Hígado y adipocitos	Glucogenólisis y lipólisis
Insulina	Todas las células	Ingreso de glucosa en las células
Tracto gastrointestinal		
Colecistoquinina	Páncreas exocrino	Secreción de enzimas digestivas
Gastrina	Mucosa gástrica	Secreción de HCl
GIP[17]	Mucosa gástrica	Inhibición de la secreción de HCl
GIP	Páncreas endocrino	Secreción de insulina
Secretina	Páncreas exocrino	Secreción de enzimas digestivas
Riñón		
Eritropoyetina	Médula ósea	Eritropoyesis
Timo		
Timosina	Células linfoides	Linfopoyesis
Varias células		
Prostaglandinas	Varias células	Múltiples
Placenta		
Lactógeno placentario	Glándula mamaria	Lactación
hCG[18]	Ovario	Ovulación y mantenimiento del cuerpo lúteo
eCG[19]	Folículos ovarianos	Maduración
Tejido adiposo		
Leptina	Hipotálamo y otras células	Modulación del apetito, del metabolismo energético y de los sistemas inmune y reproductivo
Adiponectina	Diversos tejidos	Efecto proinsulina y antiinflamatorio

[1]CRH, hormona liberadora de corticotropina; [2]GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas; [3]GRH, hormona liberadora de somatotropina; [4]MIF, factor inhibidor de melanotropina; [5]PIF, factor inhibidor de prolactina; [6]PRF, factor liberador de prolactina; [7]TRH, hormona liberadora de tirotropina; [8]ACTH, corticotropina; [9]FSH, hormona folículo-estimulante; [10]LH, hormona luteinizante; [11]MRF, factor liberador de melanotropina; [12]ADH, hormona antidiurética; [13]MSH, melanotropina; [14]T_3, triyodotironina; [15]T_4, tiroxina; [16]PTH, hormona de la paratiroides; [17]GIP, polipéptido inhibidor gástrico; [18]hCG, gonadotropina coriónica humana; [19]eCG, gonadotropina coriónica equina.

Tabla 7.2 Características de varios tipos de hormonas

Característica	Esteroides	Tiroideos	Péptidos	Aminas
Biosíntesis	Múltiples enzimas	Modificación postraducción	Modificación postraducción	Múltiples enzimas
Almacenamiento	Horas	Semanas	Horas	Días
Secreción	Difusión	Proteólisis	Exocitosis	Exocitosis
Proteínas de unión en plasma	Sí	Sí	Raro	No
Vida media	Horas	Días	Minutos	Segundos
Receptores	Núcleo	Núcleo	Membrana plasmática	Membrana plasmática
Mecanismo de acción	Regulación de la transcripción	Regulación de la transcripción	Síntesis de segundo mensajero	Síntesis de segundo mensajero

Otras hormonas se sintetizan por células diseminadas en determinados tejidos y no por órganos endocrinos definidos, como las hormonas del tracto gastrointestinal (gastrina, secretina, GIP, VIP, CCK) o las prostaglandinas, producidas en casi todas las células. Existen otras hormonas que no se sintetizan en células específicas, sino que son producidas en la sangre por acción enzimática sobre un precursor, como es el caso de la angiotensina, o generadas en la piel a partir de precursores exógenos, como en el caso de la vitamina D_3. La secreción hormonal no es necesariamente uniforme, sino que puede obedecer a estímulos, estableciendo ciclos o ritmos de varios tipos, tales como el ritmo circadiano (diario), ultradiano (horas) o circalunar (mensual). Otro concepto clásico es que las hormonas deben ser transportadas vía sanguínea desde el lugar de producción hasta su sitio de acción (función telecrina); sin embargo, algunas hormonas no entran en la circulación sanguínea, sino que pueden ir hasta la célula-blanco por difusión pasiva, como algunas prostaglandinas que tienen función paracrina. Por otra parte, hay sustancias que comparten algunas características de las hormonas sin ser consideradas como tales, como es el caso de las somatomedinas, producidas en el hígado por acción de la somatotropina.

Las hormonas esteroides y las tiroideas son transportadas en la sangre mediante proteínas específicas. Ejemplos de esas proteínas transportadoras son la globulina conductora de tiroxina (TBG), la globulina transportadora de corticoides (CBG) o transcortina, y la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG). La unión de las hormonas a sus proteínas transportadoras limita su difusión a través de los tejidos, pero al mismo tiempo las protege de la degradación enzimática. Las hormonas deben estar en su forma libre para poder entrar a las células-blanco, teniendo, por tanto, un equilibrio entre la forma unida y la forma libre de esas hormonas. Este balance varía en función de la especie; por ejemplo, en las aves la tiroxina tiene una vida media menor que en los mamíferos, porque su TBG tiene menos capacidad de unión y la tiroxina se gasta en el metabolismo con mayor rapidez.

Entre las funciones de las hormonas están las siguientes:

(a) Regulación del metabolismo de glúcidos y lípidos (insulina, glucagón).

(b) Adaptación al estrés (catecolaminas, glucocorticoides).

(c) Regulación del crecimiento y la maduración (GH).

(d) Regulación de la función reproductiva (eje hipotálamo-hipofisario, hormonas gonadales, prostaglandinas).

(e) Regulación del equilibrio hidroelectrolítico (ADH, aldosterona).

(f) Control del metabolismo del calcio y del fósforo (PTH, calcitonina, vitamina D_3).

(g) Modulación de las funciones digestivas (secretina, gastrina, CCK, GIP, VIP).

(h) Regulación de la tasa metabólica y la termogénesis (hormonas tiroidianas y adipocitocinas).

El control sobre estos procesos, es decir, los mecanismos que controlan la secreción de las hormonas, está básicamente centralizado en la regulación de tipo *feedback*. El sistema neuroendocrino posee sensores o mecanismos que pueden detectar los efectos biológicos de las hormonas para mantener el equilibrio homeostático de los metabolitos, electrolitos, fluidos biológicos y tasas de procesos metabólicos. Ejemplos de regulación *feedback* simple son la secreción de la hormona de la paratiroides (PTH) o de la insulina, en respuesta a los niveles sanguíneos de Ca^{2+} o glucosa, respectivamente. Una disminución en los niveles plasmáticos de calcio induce la secreción de PTH por la paratiroides (*feedback* negativo), mientras que una elevación de los niveles de glucosa estimula la secreción de insulina en las células beta de los islotes pancreáticos (*feedback* positivo). Existe una regulación *feedback* más compleja, como la que opera en las hormonas liberadas a través del eje hipotálamo-hipofisario. Estos mecanismos pueden ser de 'asa larga', predominantemente negativos, en los cuales las hormonas secretadas por los órganos efectores (esteroides sexuales, glucocorticoides, hormonas tiroidianas) tienen efecto negativo sobre la secreción de las hormonas tróficas hipofisiarias (LH, FSH, ACTH, TSH) y sobre las hormonas hipotalámicas (GnRH, CRH, TRH). También pueden ser de 'asa corta' y de 'asa ultracorta' o auto-*feedback*, que funcionan de forma más rápida a nivel del eje hipotálamo-hipofisario. Los factores hipotalámicos son secretados obedeciendo a una regulación *feedback* predominantemente negativa. Estos factores pueden ejercer un efecto positivo (liberador) o negativo (inhibidor). Existe un caso en que la regulación puede ser negativa o positiva, dependiendo de la fase fisiológica, como es el de la secreción de LH, que a lo largo del ciclo estral obedece a una regulación *feedback* negativa en respuesta a bajos niveles de estrógenos y progesterona, y que se vuelve regulación *feedback* positiva horas antes de la ovulación cuando responde a altos niveles de estrógenos.

También existe control del sistema nervioso directamente sobre la secreción de algunas hormonas; por ejemplo, una fibra preganglionar simpática puede estimular la liberación de adrenalina después de un impulso generado por el córtex cerebral ante un estímulo visual. Otro ejemplo de control nervioso sobre la secreción endocrina es a través de la conexión hipotalámica, como el efecto que la luz causa sobre la actividad reproductiva de algunas especies. En la oveja la actividad reproductiva aumenta con la disminución de las horas luz/día, mientras que en la yegua y la gallina la actividad reproductiva aumenta con el incremento de las horas luz/día. La acción de la luz, en esos casos, opera vía hipotálamo para modificar la secreción de las hormonas hipofisiarias gonadotrópicas, mediante la melatonina, hormona de la glándula pineal.

7.3 Mecanismos de la acción hormonal

Todas las hormonas actúan por medio de receptores específicos, presentes únicamente en las células-blanco. Todos los receptores son proteínas, a las cuales se une la hormona correspondiente con alta especificidad y afinidad, provocando cambios conformacionales que desencadenan reacciones modificadoras del metabolismo de la célula-blanco. El número de receptores varía en cada tipo de célula, variando por tanto el grado de respuesta de cada célula a la acción hormonal. La unión de la hormona al receptor es fuerte, pero no covalente. El sitio de unión es estereoespecífico y solo une la hormona correspondiente o moléculas muy similares. Estructuras análogas que se unen al receptor ocasionando los mismos efectos que la hormona son llamadas agonistas, en oposición a aquellas estructuras cuya unión al receptor no causa efecto hormonal por bloquear el receptor, que son llamadas antagonistas.

Existen dos mecanismos básicos de la acción hormonal, los cuales están en función del tipo de hormona:

(a) Las hormonas peptídicas y las catecolaminas, que no pueden penetrar las membranas plasmáticas de las células y tienen sus receptores localizados en la membrana plasmática de las células-blanco. La unión de la hormona a su receptor específico causa cambios que llevan al aumento de sustancias conocidas como 'segundos mensajeros', generalmente nucleótidos cíclicos o calcio, los cuales regulan reacciones enzimáticas específicas o modifican la velocidad de transcripción de genes específicos.

(b) Las hormonas esteroides y tiroidianas, que pueden atravesar las membranas plasmáticas, tienen sus receptores localizados en el núcleo. La interacción hormona-receptor nuclear altera directamente la transcripción de genes específicos. El mecanismo de acción de las hormonas peptídicas y de las catecolaminas, que actúan a través de segundo mensajero, es más rápido que el de las hormonas esteroides y tiroidianas, pues los primeros no necesitan entrar a la célula y causan rápidas modificaciones metabólicas por alterar la actividad de enzimas específicas, mientras que los segundos deben atravesar la membrana plasmática y el citosol hasta llegar al núcleo, además de requerir tempo para la síntesis de mRNA en el núcleo y la subsecuente síntesis de proteínas en los ribosomas. El tiempo de acción de las hormonas peptídicas y catecolaminas es de minutos o segundos, mientras que el de las hormonas esteroides y tiroideas es de horas o días. Los segundos mensajeros, metabolitos intermediarios de acción de las hormonas peptídicas y de las catecolaminas, pueden ser de varios tipos. A continuación, se consideran los más importantes.

cAMP como segundo mensajero

Earl Sutherland, en 1972, identificó la adenosina-3',5'-monofosfato cíclico o AMP cíclico (cAMP) como el mensajero intracelular producido en respuesta a la acción de la adrenalina en las células del hígado. Después se demostró que el cAMP era el mediador común de la acción de muchas hormonas. El cAMP se forma por la activación de una enzima de la membrana plasmática presente en todas las células, excepto en los eritrocitos, como consecuencia de la interacción entre una hormona y su receptor específico. La enzima que cataliza la formación del cAMP es la adenilciclasa (**Figura 7.1**).

La enzima adenilciclasa puede ser estimulada o inhibida por mecanismos que envuelven complejos proteicos regulatorios localizados en la membrana. Dos sistemas paralelos, uno estimulatorio y otro inhibitorio, confluyen en el proceso. Los complejos regulatorios (Gs y Gi) son trímeros con subunidades α, β y γ, que reaccionan con el nucleótido GTP, regulando la actividad de la adenilciclasa. La proteína estimulatoria G (Gs) está localizada al lado citosólico de la membrana plasmática y, cuando se une al GTP, estimula la producción de cAMP mediante la activación de la adenilciclasa. La proteína Gs puede existir en dos formas. Cuando la subunidad α está unida al GDP la proteína Gs está inactiva, ocurre la unión hormona-receptor, cataliza la fosforilación de GDP formando GTP y activando la proteína Gs. Simultáneamente, las subunidades β y γ de la Gs se disocian de la subunidad α. La Gsα unida al GTP se desplaza en la membrana desde el receptor hasta una molécula de adenilciclasa, activándola. La activación de la adenilciclasa cataliza la producción de cAMP a partir de ATP. Cuando la subunidad Gsα se reasocia con las subunidades β y γ la Gs vuelve a estar disponible para una nueva interacción con el complejo hormona-receptor.

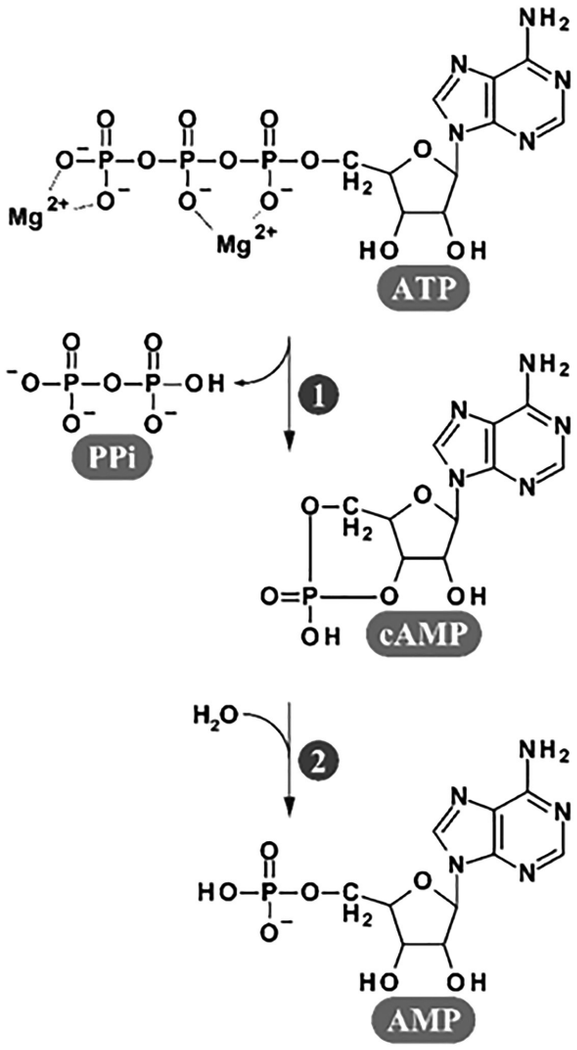


Figura 7.1 Formación y degradación del AMP cíclico

El AMP cíclico (cAMP), un segundo mensajero de la acción hormonal, se forma a partir de la acción de la enzima adenilciclasa [1] sobre el ATP, liberando pirofosfato inorgánico (PPi). Luego de una corta media vida el cAMP es hidrolizado por la enzima fosfodiesterasa [2], liberando AMP, inactivo.

La señal continúa dentro de la célula con la unión del cAMP a una proteína-quinasa dependiente de cAMP (proteína-quinasa A), molécula heterotetramérica compuesta por dos subunidades regulatorias (RR) y dos subunidades catalíticas (CC). La acción del cAMP es separar el tetrámero inactivo R_2C_2 para producir dos subunidades catalíticas (2C) activas. La unidad catalítica de la proteína-quinasa A activada fosforila residuos hidroxilo de treonina y serina de una proteína. Esta proteína por lo general es una enzima que puede inducir cambios en alguna ruta metabólica. La acción de las proteína-quinasas es reversible por la acción de fosfatasas específicas, las cuales defosforilan las proteínas sustrato de las proteína-quinasas, inactivándolas. Un resumen de los mecanismos de acción del cAMP se encuentra en la **Figura 7.2**.

Las proteína-quinasas dependientes de cAMP fosforilan una variedad de enzimas en citoplasma, membranas, mitocondria, ribosomas y núcleo. Puesto que las células tienen receptores específicos para las diferentes hormonas, el cAMP opera como un metabolito común en la acción de varias hormonas. Así, cada célula tiene enzimas que reconocen distintas hormonas, pero que son afectadas por el cAMP. El estado de fosforilación o defosforilación de las proteínas sustrato de las proteína-quinasas determina la actividad fisiológica. Por ejemplo, la enzima que degrada el glicógeno, la glicógeno-fosforilasa *a*, es activa cuando está fosforilada, mientras que la enzima sintetizadora de glicógeno, la glicógeno sintetasa, es activa cuando está defosforilada. Otras enzimas que son reguladas por la acción fosforilante de proteína quinasas dependientes de cAMP son la acetil-CoA carboxilasa (síntesis de ácidos grasos), el complejo piruvato deshidrogenasa (oxidación del piruvato en acetil-CoA), la lipasa hormonosensible (lipólisis), la fosfofructoquinasa-2 y la fructosa-2,6-difosfatasa (glucólisis y gluconeogénesis).

El cAMP tiene una vida media corta y es degradado en las células, donde es atacado por acción de la enzima fosfodiesterasa (PDE), que rompe la estructura cíclica del cAMP produciendo 5'-AMP, metabolito inactivo (**Figuras 7.1** y **7.2**). Existen tres tipos de fosfodiesterasas: una regulada por Ca^{2+}-calmodulina, otra regulada por hormonas y otra activada por cGMP. Por otra parte, la fosfodiesterasa puede ser inhibida por metilxantinas, tipo cafeína o teofilina, las cuales evitan la degradación

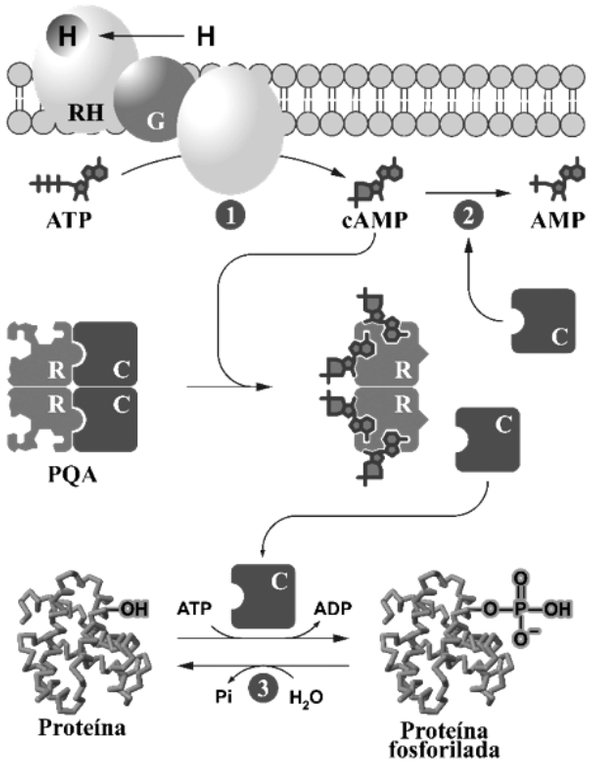


Figura 7.2 Acción hormonal mediada por el cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato o AMP cíclico) como segundo mensajero

La hormona extracelular (H) se une a su receptor en la membrana de la célula (RH), que está acoplado a una proteína-G formando el complejo GPCR (*G protein-coupled receptor*). Como resultado del cambio conformacional inducido ocurre la activación de la enzima adenilciclasa [1] asociada al complejo GPCR. La adenilciclasa convierte el ATP en cAMP en el citosol, el cual, a su vez, se une a la proteína quinasa A (PQA). Esta enzima es un tetrámero compuesto de dos subunidades reguladoras (R) y dos subunidades catalíticas (C). En su forma tetramérica la enzima es inactiva. Sin embargo, después de la unión de cuatro moléculas de cAMP en las subunidades reguladoras (R) ocurre la liberación de las subunidades catalíticas activas, las cuales catalizan la fosforilación y consecuente activación de otras enzimas celulares. Las enzimas fosforiladas (activas) pueden ser inactivadas por acción de fosfatasas [3]. Finalmente, la subunidad catalítica activa de la PQA (C) es capaz de fosforilar y activar la fosfodiesterasa [2], que suprime la acción del cAMP a través de su conversión en AMP, ejerciendo control por retroalimentación negativa sobre los niveles intracelulares de cAMP. Detalles de las reacciones de formación y degradación del cAMP se muestran en la **Figura 7.1**.
Pi, fosfato inorgánico; PQA, proteína quinasa dependiente de cAMP.

del cAMP en la célula y, por tanto, potencializan la acción de los agentes que actúan a través de cAMP. Entre las hormonas que actúan mediante el cAMP están ACTH, LH, FSH, TSH, MSH, hCG, GnRH, TRH, PTH, calcitonina, catecolaminas β-adrenérgicas, glucagón, serotonina y vasopresina. Algunas hormonas actúan inhibiendo la adenilciclasa, disminuyendo, por consiguiente, los niveles de cAMP, evitando la fosforilación de proteínas específicas. Estas hormonas, cuando se unen a su receptor específico, activan una proteína G inhibidora (Gi), que es estructuralmente homóloga a la Gs. La proteína Gi actúa de forma similar a la Gs, o sea, se une al GTP para activarse, aunque tiene el efecto opuesto, inhibe la adenilciclasa y disminuye, por lo tanto, los niveles de cAMP. Algunas hormonas que actúan mediante este mecanismo son las catecolaminas α-adrenérgicas, la insulina, la somatostatina y las prostaglandinas PGE_1 y PGE_2, además de los agentes opiáceos y los agonistas colinérgicos muscarínicos, como la acetilcolina.

cGMP como segundo mensajero

Otro nucleótido que actúa como segundo mensajero es el guanosín monofosfato cíclico (cGMP), especialmente en las células del epitelio intestinal, corazón, vasos sanguíneos, cerebro y ductos colectores renales. La acción del cGMP varía de acuerdo con el tejido. En el riñón y el intestino produce cambios en el transporte de iones y la retención de agua, en el corazón causa disminución de la contracción y en el cerebro está relacionado con el desarrollo y la función. El cGMP se forma con mecanismos similares al cAMP, por acción de la enzima guanilciclasa:

$$GTP \rightarrow cGMP + PPi$$

La enzima guanilciclasa puede ser encontrada en las células, en la forma de dos isoenzimas, una en el citosol y otra en la membrana. Los niveles de cGMP, no obstante, son 5 % de los niveles de cAMP y pueden ser aumentados por la acción de varias hormonas o neurotransmisores, tales como acetilcolina, insulina, somatostatina, angiotensina y prostaglandinas, entre otros. Por eso se cree que el cGMP es intermediario de efectos opuestos a los del cAMP. Ejemplos de sustancias que actúan a través del cGMP son los siguientes:

(a) En mamíferos el llamado factor natriurético atrial (ANF) es producido por activación de guanilciclasa de las membranas de las células atriales del corazón cuando ocurre aumento del volumen circulatorio, lo que ocasiona dilatación del atrio. La hormona ANF también activa la guanilciclasa de las células colectoras de los túbulos renales para aumentar la excreción de Na^+ y, por tanto, de agua, con lo que se reduce el volumen circulatorio. Sobre los vasos sanguíneos la hormona ANF también actúa mediante la guanilciclasa para causar vasodilatación, lo que reduce la presión sanguínea.

(b) En las células intestinales un receptor de membrana que actúa con guanilciclasa puede ser activado por una toxina bacteriana, pequeño péptido de la *E. coli*, que resulta en aumento de cGMP y lleva a la menor absorción de agua por el epitelio intestinal con la consecuente diarrea.

La forma isoenzimática de la guanilciclasa en citosol es una proteína asociada al grupo hemo que es estimulada por el óxido nítrico (NO). Este óxido nítrico es producido a partir de la arginina por acción de la enzima NO-sintetasa, una oxidasa dependiente de Ca^{2+}, presente en muchos tejidos de mamíferos:

$$\text{arginina} + NADPH + O_2 \rightarrow \text{citrulina} + NADP^+ + NO$$

El cGMP producido por acción de la guanilciclasa mediante estímulo del NO causa disminución de la contracción cardíaca, mediante estimulación de la bomba iónica que mantiene baja la concentración de Ca^{2+} en el citosol de la célula cardíaca. En muchos casos el aumento de los niveles de cGMP es estimulado por el flujo de iones Ca^{2+} en el interior de la célula, posiblemente porque ese ion es activador de la guanilciclasa. El cGMP, de forma similar al cAMP, es hidrolizado por fosfodiesterasas específicas.

Calcio como segundo mensajero

El Ca^{2+} es un importante regulador de varios procesos celulares y también actúa en algunas células como segundo mensajero de la acción hormonal. La concentración de Ca^{2+} extracelular es mayor que la intracelular (5 mM vs. 0,1-10 μM, respectivamente). La concentración citosólica de Ca^{2+} se mantiene en baja concentración mediante una bomba de Ca^{2+} en el retículo endoplasmático, en la mitocondria y en la membrana plasmática. La entrada de Ca^{2+} en la célula es restricta y ocasionada por estímulos neuronales u hormonales. La acción del Ca^{2+} está regulada por

la calmodulina, una proteína ubicua de bajo peso molecular (17 kDa), homóloga a la troponina c del músculo, encontrada en todas las células de todos los seres vivos. La calmodulina tiene cuatro sitios de unión al Ca^{2+}, los cuales provocan un cambio conformacional cuando están ocupados, relacionada con la capacidad de la calmodulina para activar o inactivar enzimas. La unión Ca-calmodulina es similar a la unión cAMP-proteína-quinasa. Cuando la concentración intracelular de Ca^{2+} aumenta a 1 mM, este se une a la calmodulina y causa un cambio conformacional, activándola (**Figura 7.3**).

Derivados del fosfatidilinositol como segundos mensajeros

En la membrana plasmática existe una enzima hormonosensible llamada fosfolipasa C, que actúa específicamente sobre el fosfatidilinositol 4,5-difosfato, catalizando su hidrólisis en diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (ITP). Esos dos compuestos pueden actuar como segundos mensajeros de la acción hormonal (**Figura 7.4**).

Las hormonas que tienen este mecanismo de acción se unen a su receptor en la membrana y catalizan la transformación de un GTP en un GDP en la proteína Gp, similar a la proteína Gs, activándola. La proteína Gp activa puede estimular la enzima fosfolipasa C unida a la membrana. El ITP estimula la salida de Ca^{2+} de los organelos citoplasmáticos; por esa razón, se cree que el ITP sea el integrador entre la hormona y la movilización de Ca^{2+} de las reservas intracelulares. El DAG activa una proteína-quinasa dependiente de Ca-fosfolípido (proteína-quinasa C), la cual fosforila proteínas en residuos de Ser y Thr, modificando sus actividades (**Figura 7.5**). Algunas hormonas que actúan mediadas por el DAG y/o el ITP son TRH, ACTH, LH, angiotensina II, serotonina y vasopresina.

Otros segundos mensajeros

En algunos casos los receptores están acoplados directa o indirectamente con canales de iones en la membrana plasmática. El mejor ejemplo de esos casos es el receptor nicotínico para acetilcolina. La acetilcolina es un neurotransmisor y su receptor se encuentra en las células postsinápticas de algunas neuronas y en la unión neuromuscular. El receptor de acetilcolina es un complejo compuesto por cuatro cadenas polipeptídicas diferentes, con peso molecular total de 250 kDa. Una de las cadenas tiene dos copias, totalizando cinco subunidades. Las cadenas proteicas están organizadas en la membrana y crean un canal hidrofílico a través del cual pueden pasar iones. Cuando la acetilcolina, liberada por la despolarización del nervio presináptico, se une a su receptor de la

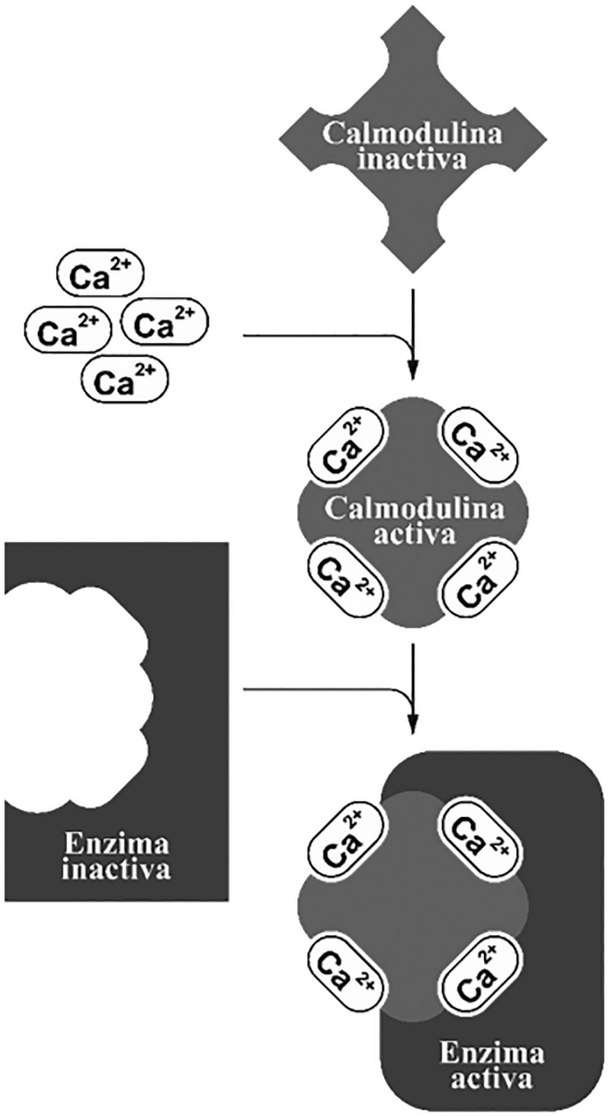


Figura 7.3 Regulación de la actividad enzimática por el complejo calcio/calmodulina

La calmodulina (***cal****cium-****modul****ated prote****in***) es una proteína multifuncional que actúa como intermediaria de la acción del calcio como segundo mensajero. La calmodulina se activa intracelularmente por la unión del Ca^{2+}. Una vez activada, la calmodulina actúa como parte de una vía de transducción de señal de calcio, modificando sus interacciones con varias proteínas blanco, como quinasas o fosfatasas. Estas últimas son responsables de efectuar modificaciones en vías metabólicas.

célula postsináptica, el canal del receptor se abre, permitiendo el paso de iones Na^+ y K^+. La acción de la acetilcolina termina después, mediante su hidrólisis por la enzima acetilcolinesterasa, o mediante su reingreso en la célula presináptica.

Proteína-quinasas como intermediarias de la acción hormonal

Un denominador común en las señales transduccionales de la acción hormonal, sea a través de adenilciclasa, guanilciclasa, calcio/calmodulina, fosfolipasa C o canales iónicos, es la regulación sobre la actividad de una proteína-quinasa. El número de proteína-quinasas descubiertas ha aumentado bastante desde que las primeras fueron mencionadas por Edwin Krebs y Edmond Fischer en 1959. Existen centenares de proteína-quinasas, cada una con su activador específico y su propia proteína sustrato. La adición de grupos fosfato a residuos de Ser, Thr o Tyr introduce grupos cargados eléctricamente en una región moderadamente polar. Cuando la modificación ocurre en una región crítica para la estructura tridimensional de la proteína deben ocurrir modificaciones dramáticas en su conformación y, por tanto, en su actividad catalítica. Como resultado de la evolución, los residuos de Ser, Thr o Tyr que pueden ser fosforilados están localizados en secuencias-consenso de la proteína, o sea, secuencias repetidas que son reconocidas por la proteína-quinasa específica. Para poder servir como un mecanismo regulatorio efectivo, la fosforilación causada por las proteína-quinasas debe ser reversible, de modo que permita el retorno al nivel anterior de estimulación cuando la señal hormonal termine. Las enzimas que ejercen la función de reversión del proceso, o sea la defosforilación, son fosfoproteína-fosfatasas, de las cuales existen también centenares y cuya función es hidrolizar ésteres específicos de fosfoserina, fosfotreonina o fosfotirosina en proteínas específicas.

Acción hormonal mediada por receptores nucleares

Algunas hormonas con peso molecular de cerca de trescientos Da, como los esteroides, las hormonas tiroidianas y el metabolito de la vitamina D_3, actúan a través de receptores nucleares. Esas hormonas, cuya molécula es lipofílica, atraviesan la membrana plasmática por difusión simple y entran al citosol, alcanzando directamente el núcleo. El complejo hormona-receptor activado se une a regiones específicas del DNA para activar o inactivar genes específicos. Selectivamente afecta la transcripción y la producción del mRNA respectivo (**Figura 7.6**).

Fue identificado un elemento sensible a hormona (HRE) en la región regulatoria del DNA, próximo al elemento promotor que regula la frecuencia de iniciación de la transcripción, en forma similar a los genes facilitadores (*enhancers*). El mRNA es

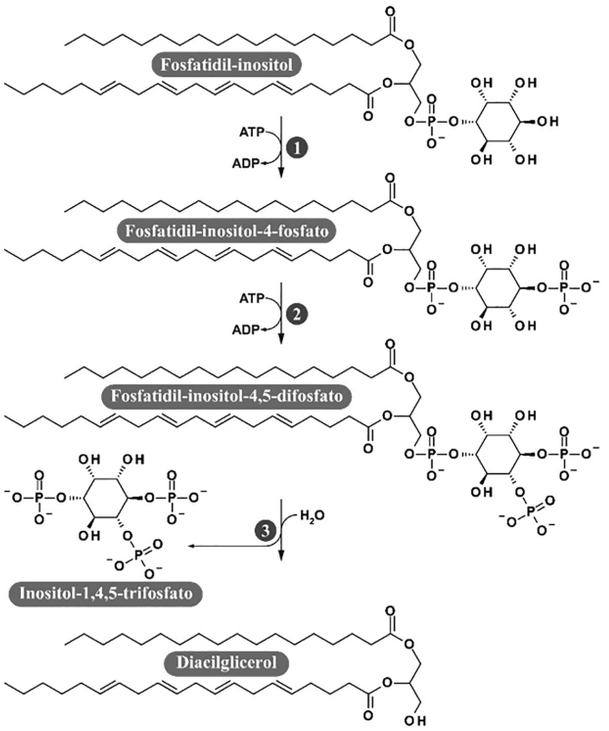


Figura 7.4 Formación de los segundos mensajeros inositol 1,4,5-trifosfato (ITP) y diacilglicerol (DAG)

El fosfatidilinositol pertenece al grupo de los fosfatidil-glicéridos, una parte minoritaria de los lípidos presentes en el lado citosólico de la membrana plasmática de eucariotas. Está constituido por una molécula de glicerol esterificada por dos ácidos grasos (comúnmente un estearato y un araquidonato), un grupo polar fosfato y un inositol. Es una molécula anfipática, donde las cadenas apolares de los ácidos grasos permanecen embebidas en la membrana citoplasmática y la porción polar en el citosol. Inicialmente la enzima 1-fosfatidilinositol 4-quinasa [1] convierte el fosfatidilinositol en fosfatidilinositol 4-fosfato. Después, por acción de la enzima 1-fosfatidilinositol 4-fosfato 5-quinasa [2] se forma el fosfatidilinositol 4,5-difosfato. Este último, por acción de la fosfolipasa C [3], controlada hormonalmente, libera los segundos mensajeros ITP y DAG.

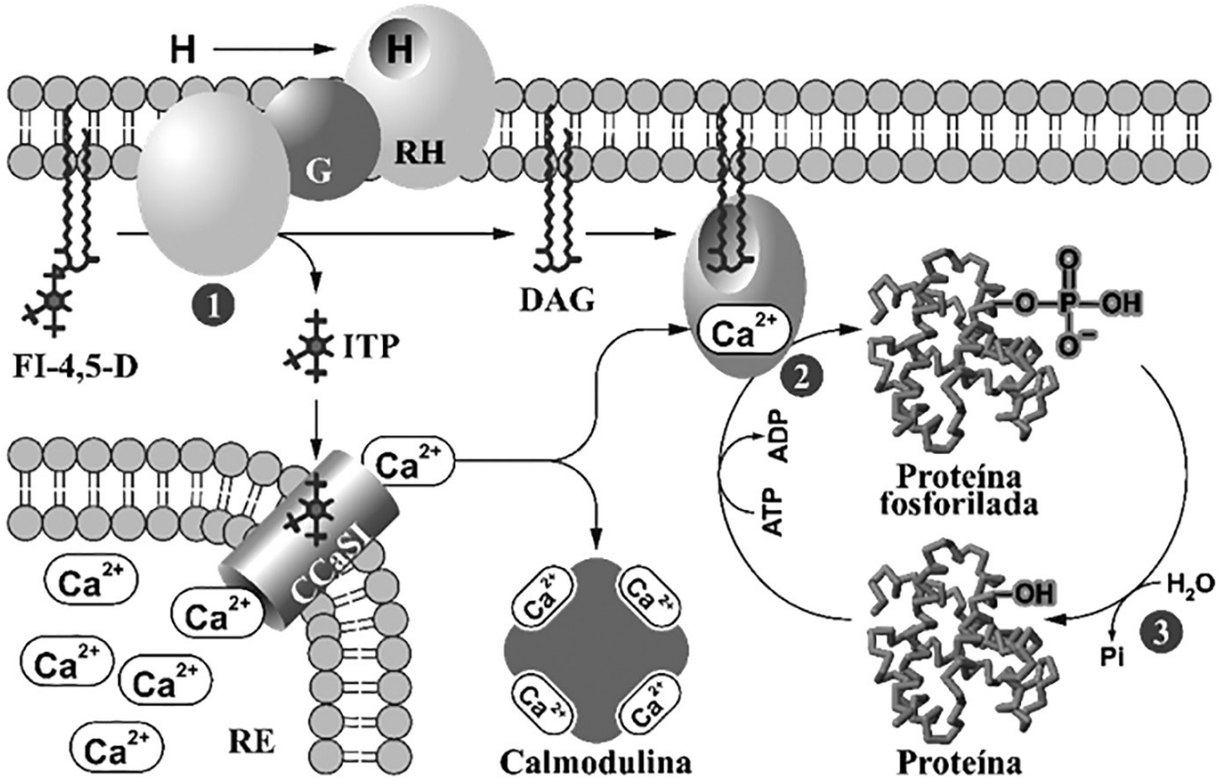


Figura 7.5 Acción hormonal mediada
por el inositol 1,4,5-trifosfato (ITP) y el diacilglicerol (DAG) como segundos mensajeros

Después de la unión de la hormona extracelular (H) a su receptor (RH) acoplado a una proteína-G, ocurre la activación de la fosfolipasa C [1] del complejo GPCR (*G protein-coupled receptor*). La fosfolipasa C activada hidroliza el fosfatidilinositol 4,5-difosfato (FI-4,5-D) en ITP y DAG. El ITP, a su vez, actúa sobre el canal de calcio sensible al ITP (CCaSI), liberando el Ca^{2+} contenido en el retículo endoplasmático (RE) para el citosol. El Ca^{2+} liberado puede ejercer sus acciones como segundo mensajero de dos formas: a través de la activación de la calmodulina (**Figura 7.3**) o a través de la asociación a otro segundo mensajero, el DAG, en la activación de una proteína quinasa C [2], enzima responsable de fosforilar (y activar) otras enzimas celulares. Las enzimas fosforiladas (activas) pueden ser inactivadas por acción de fosfatasas [3]. Detalles de la formación del FI-4,5-D se muestran en la **Figura 7.4**.

después traducido en los ribosomas para producir la proteína específica que causa la respuesta metabólica.

Las secuencias de DNA de los HRE, a los cuales se une el complejo hormona-receptor, son similares en longitud, aunque diferentes en secuencia para las varias hormonas esteroides. En cada receptor hay una secuencia-consenso, a la cual se une el complejo hormona-receptor. Cada secuencia-consenso de HRE consta de dos secuencias de seis nucleótidos, que pueden estar vecinas entre sí o separadas por tres nucleótidos. La capacidad de determinada hormona para alterar la expresión de un gen en determinada célula depende de la secuencia exacta del HRE y su posición relativa en el gen, así como de la cantidad de HRE asociados al gen. Además de su unión al DNA y a la hormona, los receptores nucleares tienen dominios que interactúan con elementos de la transcripción, los cuales afectan la velocidad con que se produce la acción hormonal. Los receptores de las hormonas esteroides y tiroidianas muestran secuencias de aminoácidos conservadas. Así, existe una secuencia de 66 a 68 residuos, muy similar en todos los receptores, que sirve para su unión al DNA. Estas proteínas comparten una estructura conocida como región 'dedo de zinc', la cual contiene ocho residuos de Cys que permiten la unión de dos iones de Zn^{2+}, con lo cual estabiliza la unión de la proteína al DNA.

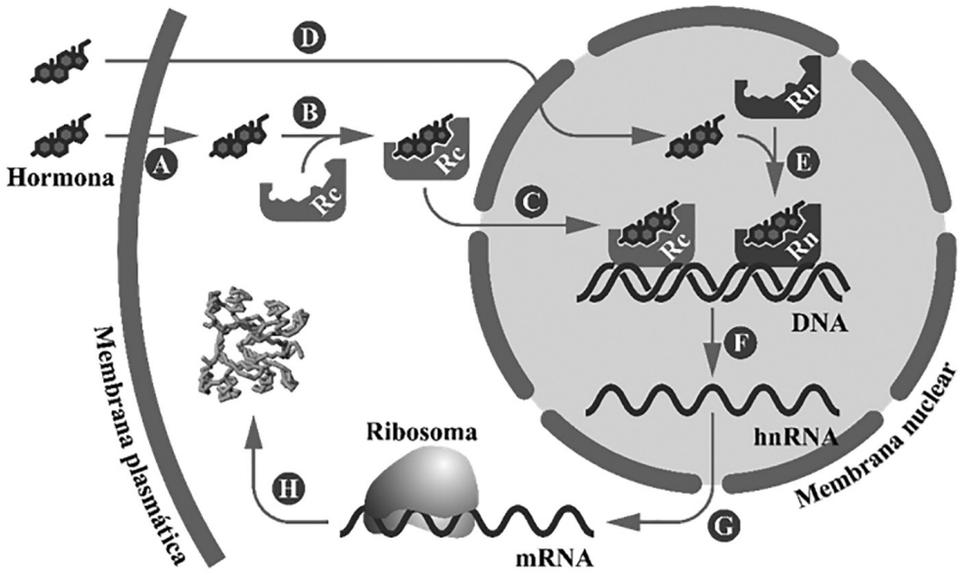


Figura 7.6 Mecanismo de acción de las hormonas esteroides

La hormona pasa a través de la membrana plasmática y llega al interior de la célula (etapa A), donde se une a su receptor citosólico (Rc, etapa B). El complejo hormona-receptor se transporta al núcleo de la célula, donde se une a secuencias específicas en el DNA (etapa C). Alternativamente, algunas hormonas esteroides van directamente al núcleo (etapa D), donde se unen a los receptores que están confinados en el núcleo (Rn, etapa E). También en este caso el complejo hormona-receptor se une a secuencias específicas en el DNA, regulando la transcripción. En este caso ocurre una regulación positiva, aumentando la expresión de un determinado gen (etapa F), con la síntesis de un hnRNA (RNA nuclear heterogéneo), el cual, luego de sufrir procesamiento (adición de CAP y cola de poli(A), así como *splicing*), es transportado al citosol para ser traducido en el ribosoma (etapa G). Finalmente, después de la traducción del mRNA, será generada una proteína funcional (etapa H).

La región del receptor que se une a la hormona está localizada siempre en el extremo carboxilo y varía de acuerdo a la hormona. El receptor de los glucocorticoides es 30 % homólogo con el receptor de estrógeno y solo 17 % homólogo con el receptor de tiroxina. El receptor de la vitamina D tiene únicamente 25 residuos de aminoácidos, mientras que el receptor de los mineralocorticoides tiene 603 residuos. Una mutación del receptor en la secuencia de unión a la hormona afecta la actividad del receptor y la acción de la hormona. Un esteroide antagonista de la progesterona, la droga conocida como RU486, tiene la capacidad de unirse a receptores de la hormona, bloqueando su actividad. Esa droga puede ser usada para la terminación de la gestación en el período inicial.

7.4 Métodos de medición de la concentración de las hormonas

Las hormonas, normalmente, se hallan en concentraciones muy bajas en la sangre, del orden de micromolar ($\mu M = 10^{-6}$ M) a picomolar ($pM = 10^{-12}$ M). Eso contrasta con otros metabolitos, como glucosa, cuyas concentraciones en la sangre son del orden de milimolar ($mM = 10^{-3}$ M). Por esa razón, la medición, identificación y aislamiento de las hormonas fue una difícil tarea hasta el advenimiento de la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Esta técnica, desarrollada por Yallow y Berson, en 1960, utilizaba radioisótopos para marcar los antígenos o los anticuerpos, siendo altamente sensible para determinar cantidades mínimas de muchas hormonas en forma bastante específica. La primera hormona medida por esta técnica fue la insulina.

Algunos de los métodos corrientes para la cuantificación de hormonas se basan en la competencia entre la hormona a ser cuantificada (no marcada) y la hormona idéntica marcada. Ambos compiten por la unión a un anticuerpo que está adsorbido al tubo, y además el compuesto marcado debe ser esencialmente idéntico a la sustancia a ser medida (la hormona). En la **Figura 7.7** se muestran los principios en que se basan los ensayos competitivos de análisis hormonales, con independencia del tipo de marcador usado.

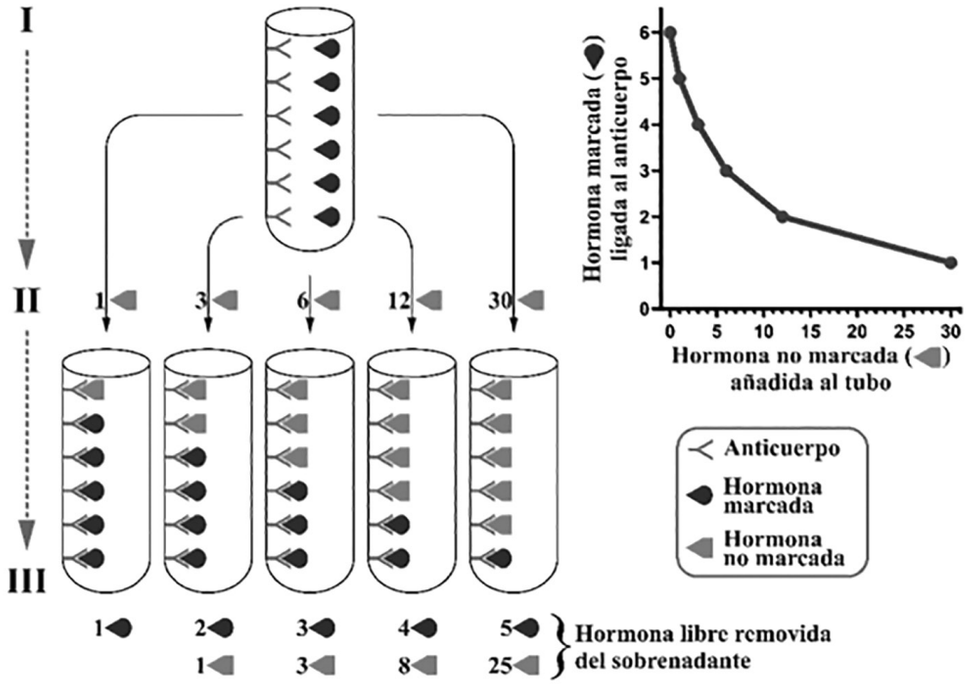


Figura 7.7 Inmunoensayos de competición en fase sólida para la cuantificación de hormonas

En los ensayos de competición el anticuerpo y la hormona marcada están en cantidades constantes y limitadas en todos los tubos (etapa I). Las cantidades crecientes de la hormona no marcada se añaden por separado a los tubos (etapa II), compitiendo por la unión al anticuerpo adsorbido al tubo. Después de la incubación de la reacción se hace la remoción de la hormona libre del sobrenadante, tanto del marcado como del no marcado. En seguida, es medida la cantidad de la hormona marcada que permanece unida al anticuerpo (paso III). Hay una relación inversa entre la cantidad de hormona no marcada agregada a la reacción y la cantidad de hormona marcada que permanece ligada al anticuerpo. La cuantificación de esta hormona marcada permite el establecimiento de una curva estándar utilizable para cualquier muestra desconocida. Alternativamente, otros ensayos utilizan el antígeno adsorbido al tubo asociado a un anticuerpo marcado.

Más recientemente fueron introducidas técnicas que utilizan sustancias quimioluminiscentes como marcadores, cual es el caso de los ésteres de acridinio (**Figura 7.8**).

7.5 Trastornos endocrinos

Una proporción relativamente pequeña de los pacientes atendidos en la clínica general presenta disturbios endocrinos; sin embargo, la gran mayoría de los pacientes con alguna endocrinopatía se vuelven pacientes regulares debido al carácter crónico de la mayoría de los disturbios endocrinos. Muchas veces no existe cura para el problema, por lo cual es necesario establecer un rígido control de la enfermedad a fin de garantizar una adecuada calidad de vida al paciente. Los trastornos hormonales en los animales pueden ocurrir por hipo- o por hiperfunción de las glándulas endocrinas. También, eventuales mecanismos de resistencia a la acción de determinada hormona puede ser la causa del problema, como por ejemplo, situaciones de resistencia insulínica que llevan a hiperglucemia y diabetes mellitus; una característica común de estas es que la estimulación prolongada sobre una población de células secretoras predispone a la presentación de tumores por desarrollo de clones de células que crecen más rápidamente que el resto y son más susceptibles a una transformación neoplásica. Las neoplasias de las glándulas endocrinas son generalmente activas, secretan una cantidad excesiva de hormonas de forma continua o episódica y provocan síndromes clínicos característicos.

Entre los ejemplos más comunes de neoplasias endocrinas en los animales pueden ser citados los siguientes: neoplasia de los islotes pancreáticos en perros, que causan hipoglucemia (insulinoma); hipertiroidismo por adenoma de la tiroides en perros

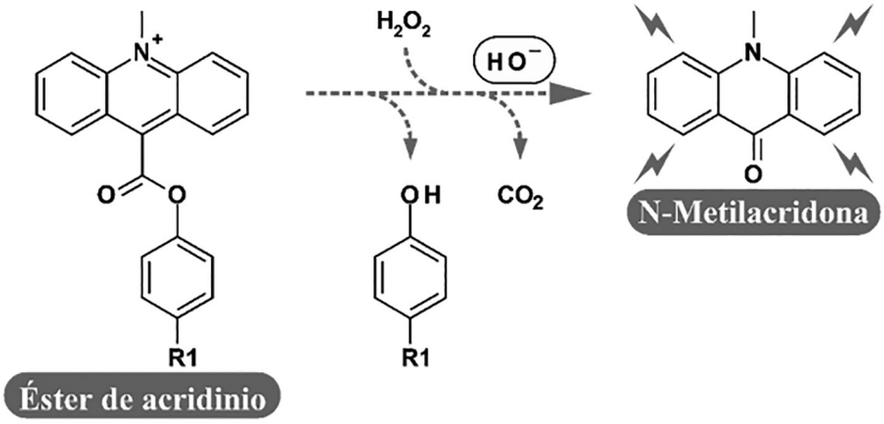


Figura 7.8 Ésteres de acridinio como marcadores en inmunoensayos quimioluminiscentes

La exposición de un éster de acridinio a una solución alcalina de peróxido de hidrógeno genera N-metilacridona, la cual emite rápida e intensa luminiscencia (luz azul de 440 nm, por 1 s). Los compuestos marcados con acridinio tienen una intensidad de quimioluminiscencia cien veces más fuerte que los marcados con luminol. El éster de acridinio puede ser conectado directamente tanto a antígenos como a anticuerpos, haciéndolos luminiscentes. Además, no hay necesidad de utilizar enzimas conjugadas, como la peroxidasa o la fosfatasa alcalina. R1, radical orgánico variable.

y gatos; hipercalcitonismo por tumores de las células C de la tiroides en toros, causando osteoesclerosis; hiperadrenocorticismo (síndrome de Cushing) por neoplasias de hipófisis (corticotropinomas) o de córtex adrenal; hiperaldosteronismo por tumores de córtex adrenal en gatos que causan hipertensión e hipocalemia; feocromocitoma en la médula adrenal en perros, con exceso de producción de catecolaminas, causando hiperglucemia e hipertensión; tumor de las células de Sertoli en perros, que secretan estrógenos en exceso y causan feminización; adenoma de la paratiroides en perros, que causa desmineralización progresiva y generalizada de los huesos, hipercalcemia, mineralización de los tejidos blandos y desarrollo de cálculos renales.

Como norma general, para confirmar un tumor endocrino se deben medir los niveles de la hormona en sangre y orina a nivel basal, así como bajo supresión y/o estimulación durante un período de veinticuatro horas. Puede existir hiperactividad de una glándula secundaria a una enfermedad en otro órgano. Por ejemplo, en el hiperparatiroidismo secundario a una lesión renal hay falta de excreción de fósforo por la orina e impedimento de la activación de la vitamina D por la enzima 1α-hidroxilasa. El exceso de fósforo en el plasma tiene efecto similar a una deficiencia de calcio y la ausencia de vitamina D que impide la absorción de calcio en el intestino. Los dos eventos concurren para activar la glándula paratiroidea y extraer calcio de los huesos. En animales carnívoros puede ocurrir hiperparatiroidismo nutricional debido a dietas a base de carne, con poco calcio y mucho fósforo, lo que también activa la paratiroides. La acción persistente de la paratiroides provoca la desmineralización del esqueleto y predispone a fracturas óseas.

Por otra parte, en la hipofunción primaria de una glándula endocrina la secreción es inferior a los niveles normales, lo que puede ser debido a varias causas, como la destrucción de las células secretoras por enfermedad inmunológica, la falta de desarrollo de la glándula o la deficiencia bioquímica en la ruta de biosíntesis de la hormona, o bien debido a la falta de alguna enzima o precursor. En animales el daño de origen inmunológico en células endocrinas es relativamente frecuente en la paratiroides, el páncreas endocrino, el córtex adrenal y la tiroides. En ovejas, cabras y vacas tiene lugar un defecto congénito en la producción de tiroglobulina, proteína almacenadora de las hormonas tiroideas, causando hipotiroidismo. El fenómeno es debido a defectos en la transcripción del mRNA de la tiroglobulina. También puede ocurrir hipofunción de la tiroides en casos de deficiencia de yodo (bocio) en todos los animales. En perros y gatos ha sido observada hipofunción endocrina secundaria a lesiones en la hipófisis, lo que causa hipofunción detectable del córtex adrenal, la tiroides y las gónadas.

Otras disfunciones endocrinas pueden ser debidas a problemas en la biosíntesis, en la estructura o en el número de los receptores de las células-blanco, o a trastornos en las señales de transducción, es decir, en la producción de segundos mensajeros.

7.6 Hormonas hipotálamo-hipofisarias

En el **Cuadro 7.2** se presenta la cronología de los principales eventos relacionados a las hormonas de hipotálamo e hipófisis.

Hipotálamo

El eje hipotálamo-hipofisario es la unidad funcional de integración de los sistemas nervioso central y endocrino que regula importantes funciones metabólicas responsables del crecimiento, la lactación, la reproducción y el equilibrio hídrico. El hipotálamo es una parte especializada del sistema nervioso central localizado en la base del cerebro, encima y atrás del quiasma óptico. La hipófisis se halla directamente abajo del hipotálamo. Los elementos celulares hipotalámicos que regulan la secreción de la hipófisis anterior no están localizados en regiones específicas; no obstante, los núcleos supraóptico y paraventricular fueron identificados como los más importantes. A las hormonas secretadas por el hipotálamo se les llama transductores neuroendocrinos, ya que ellas transforman los impulsos nerviosos en señales hormonales. Algunas hormonas hipotalámicas estimulan la pituitaria anterior (factores de liberación), mientras que otras son inhibitorias. Después de la estimulación, la hipófisis anterior secreta hormonas que van vía sanguínea a los órganos-blanco secundarios, los cuales incluyen el córtex adrenal, la glándula tiroides, las gónadas y los islotes del páncreas. Esas glándulas, a su vez, al ser estimuladas por las hormonas hipofisarias, secretan hormonas que van por la sangre hasta sus respectivos órganos-blanco finales.

Las hormonas liberadoras o inhibidoras quedan almacenadas en terminales nerviosos de la eminencia media del hipotálamo, donde sus concentraciones son de diez a cien veces mayores que en otros lugares. El sistema portal hipotálamo-hipofisario no es compartimentado, de forma que todas las hormonas hipotalámicas llegan a todos los tipos de células de la hipófisis. La especificidad de la respuesta se obtiene por la presencia de receptores en las células de la adenohipófisis. En contraste con otras zonas del cerebro, la barrera hematoencefálica en el área de la eminencia media es incompleta, permitiendo el paso de péptidos y proteínas, así como de otras moléculas con carga eléctrica, desde los espacios intercapilares hasta los terminales nerviosos, los cuales responden a estímulos tanto humorales (hormonas) como neuronales.

GnRH

La GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) fue aislada y caracterizada en 1971 por Schally y Guillemin. Inicialmente creyeron que la GnRH estimulaba solo la secreción de LH y por esa razón también fue llamada LHRH, pero luego fue dilucidado que apenas una sustancia estimula la secreción tanto de FSH como de LH y que el patrón de pulsatilidad de la secreción de GnRH es lo que determina si la hipófisis secreta LH o FSH. La secuencia de aminoácidos de la GnRH fue esclarecida por Matsuo, en 1971, siendo el siguiente decapéptido:

p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2

La GnRH tiene dos tipos de secreción, una tónica y otra cíclica. Esta última opera apenas en hembras después de la pubertad. La secreción de GnRH es estimulada por dopamina y noradrenalina e inhibida por serotonina. Su mecanismo de acción sobre las células gonadotrópicas de la hipófisis se da a través de cAMP y calcio. El cAMP provoca aumento del nivel de Ca^{2+} intracelular, lo cual causa contracción de microfilamentos que dirigen los gránulos de secreción conteniendo la hormona a la periferia de la célula para ser liberada al sistema portal hipotálamo-hipofisario. Este mecanismo de acción opera en todas las hormonas liberadoras hipotalámicas. La secreción de las hormonas liberadoras hipotalámicas es modulada por los niveles de las hormonas secretadas en los órganos-blanco primarios y secundarios. En el caso de la GnRH el control de secreción se hace por las propias gonadotropinas hipofisarias (LH, FSH) y la progesterona y el estradiol en la hembra, y por la testosterona en el macho. La inhibina, hormona glucoproteica secretada por el ovario y el testículo, inhibe específicamente la secreción de FSH. La buserelina y el fertirelin son agonistas sintéticos de la GnRH, obtenidos por sustituciones de aminoácidos en las posiciones 3, 6 y 9. Esos compuestos son utilizados con fines terapéuticos en la práctica veterinaria, siendo diecisiete veces más potentes que la GnRH natural debido a su menor tasa de degradación.

Cuadro 7.2 Cronología de eventos relacionados a hipotálamo e hipófisis

170	Galeno describe anatómicamente la hipófisis, mencionando como función la secreción de moco y como fuente "uno de los cuatro humores".
1543	Vesalius llama a la hipófisis *glans cerebri pituitam excipiens*, de donde deriva el término 'pituitaria'.
1659	Wharton describe las características morfológicas de la glándula pineal.
1664	Willis propone que un "humor" del cerebro es llevado a la glándula pituitaria.
1742	Lieutaud descubre el sistema portal como conexión entre el hipotálamo y la pituitaria.
1778	Soemmening propone el término "hipófisis".
1794	Frank describe la diabetes insípida.
1824	Santorini identifica el lóbulo posterior de la hipófisis.
1838	Rathke describe la anatomía y embriología de la hipófisis.
1843	Hannover describe los tipos de células de la hipófisis y las divide en cromófobas, acidófilas y basófilas.
1860	Luscka reconoce la naturaleza nerviosa de la hipófisis posterior y propone el nombre "neurohipófisis".
1885	Pierre Marie acuña el término "acromegalia".
1886	Hursley realiza las primeras hipofisectomías.
1887	Minkowski relaciona la acromegalia con un tumor de la hipófisis.
1894	Ramón y Cajal establece las conexiones de la neurohipófisis con el hipotálamo.
1895	Oliver y Schafer observan una acción vasopresora causada por extractos de la hipófisis posterior.
1898	Howell describe la vasopresina.
1901	Magnus y Schafer describen el efecto antidiurético de la neurohipófisis.
1908	Paulesco señala que la extirpación del lóbulo anterior de la hipófisis es mortal, pero no la del lóbulo posterior.

1909	Delille prueba que la administración de extractos hipofisarios puede causar hipertrofia adrenal. Dale demuestra la acción oxitócica de la neurohipófisis.
1910	Ott y Scott describen la acción lactogénica de la neurohipófisis.
1921	Evans y Lang, administrando extractos de lóbulo anterior hipofisario, observan aumento del crecimiento en ratas, sugiriendo la presencia de una hormona del crecimiento en esta glándula.
1926	Zondik y Aschheim inducen la pubertad en ratas inmaduras mediante trasplantes de lóbulo anterior hipofisario y proponen la existencia de dos hormonas, que llaman Prolan A y Prolan B.
1928	Uhlenhuth y Schwartzbach observan que la atrofia tiroidiana causada por hipofisectomía es revertida con extractos hipofisarios.
1928	Kamm separa dos fracciones de la neurohipófisis, una con actividad vasopresora y antidiurética, y otra con acción oxitócica.
1929	Leeb y Basset comprueban que la inyección de extractos hipofisarios de forma repetida causa cambios histológicos compatibles con hipertiroidismo.
1930	Feevola propone los nombres "hormona folículo-estimulante (FSH)" y "hormona luteinizante (LH)" para Prolan A y Prolan B, respectivamente.
1932	Riddle aísla de la hipófisis una hormona lactogénica que es llamada prolactina.
1932	Zondek y Krohn identifican la MSH, inicialmente llamada intermedina.
1933	Se descubre la última hormona de la adenohipófisis, la ACTH, por parte de Collip.
1935	Una comisión internacional publica acuerdo con nomenclatura para todas las hormonas hipofisarias.
1936	Selye describe el síndrome del estrés.
1939	Se establece la función integradora de la hipófisis sobre varias funciones endocrinas y se propone una regulación bidireccional.
1951	Bargmann y Scharrer formulan la hipótesis de que las hormonas de la neurohipófisis son de origen hipotalámico y transportados vía nerviosa.
1952	Popa y Fielding sugieren el papel regulador del hipotálamo y describen la relación sanguínea portal existente entre hipotálamo e hipófisis.
1955	Guillemin y Schally descubren la hormona liberadora de corticotropina (CRH).

1960	McCann y Harris descubren la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), también llamada liberadora de hormona luteinizante (LHRH).
1962	Lederis localiza los sitios de síntesis de las hormonas de la neurohipófisis como el núcleo paraventricular para la oxitocina y el núcleo supraóptico para la vasopresina.
1962	Schreiber describe la hormona liberadora de tirotropina (TRH).
1972	Luizzi describe la acción inhibidora de la L-DOPA sobre la GH.
1975	Bradury, Smyth y Snell aíslan y describen la estructura de la betaendorfina.

TRH

La hormona liberadora de tirotropina (TRH) es la menor hormona peptídica conocida, y está constituida por los siguientes tres aminoácidos:

p-Glu-His-Pro-NH_2

La TRH estimula la liberación de tirotropina (TSH), somatotropina (GH) y prolactina (PRL) en la hipófisis, y su secreción es inhibida por las hormonas tiroidianas (T_3 y T_4) y por la TSH. Su mecanismo de acción se da a través de cAMP.

CRH

La hormona liberadora de corticotropina (CRH) es un péptido de 41 aminoácidos. Fue el primer factor liberador extraído del hipotálamo, aunque su estructura se elucidó apenas en 1981, por Spiess. Su secreción es estimulada por serotonina y acetilcolina e inhibida por noradrenalina y el ácido γ-aminobutírico (GABA). La CRH provoca la liberación, en las células corticotrópicas de la hipófisis, de ACTH, β-lipotropina y β-endorfina, teniendo también características de neurotransmisor, pues altera el nivel de excitabilidad de las neuronas del sistema nervioso central.

Somatocrinina

La somatocrinina, también llamada GHRH o SRH (hormona liberadora de somatotropina), fue aislada por Deuben y Maites en 1964 y caracterizada por Guillemin en 1981 como un péptido de 35 a 44 aminoácidos, variando en función de la especie. La somatocrinina estimula la secreción de GH, siendo inhibida por esta misma hormona. Su secreción es estimulada por dopamina, serotonina, adrenalina y noradrenalina, estando afectada por la edad. La frecuencia y amplitud de su secreción son mayores hasta la pubertad. La somatocrinina, junto con la somatostatina, constituye el control primario de la secreción de GH.

Somatostatina

La somatostatina (SRIF) es un péptido de catorce aminoácidos que tiene acción opuesta a la somatocrinina, o sea, inhibe la secreción de GH. Parece que actúa inhibiendo el sistema adenilciclasa y/o por alteración de la permeabilidad al Ca^{2+} o a otros iones. Existe la hipótesis de que la somatostatina se libera en situaciones de estrés para equilibrar la secreción de las hormonas del estrés (GH, TSH, ACTH, insulina, glucagón y prolactina). La somatostatina puede ser encontrada asimismo en el tracto gastrointestinal, donde inhibe la secreción de las hormonas gastrina y secretina y de las enzimas digestivas pepsina y tripsina. También es secretada por el páncreas, donde parece que regula el metabolismo de la glucosa por inhibir la secreción de insulina y glucagón.

PRF / PIF

Los factores PRF y PIF (factores liberador e inhibidor de prolactina) controlan la biosíntesis y secreción de prolactina. El efecto inhibitorio parece prevalecer durante el estado basal a través del PIF, el cual fue identificado como la dopamina, una amina biogénica que actúa como neurotransmisor. La secreción de prolactina también se estimula por otras sustancias, como neurotensina, sustancia P, histamina, serotonina y por agentes α-adrenérgicos. La TRH ha sido investigada

como el factor liberador de prolactina por estimular su secreción. Los estrógenos también estimulan la secreción de prolactina, por inhibir la dopamina. La dopamina constituye el único factor hipotalámico no peptídico y parece actuar impidiendo la movilización de Ca^{2+} al interior de la célula lactotrópica secretora de prolactina en la adenohipófisis. El amamantamiento parece inhibir la secreción de dopamina, aumentando, por tanto, los niveles de prolactina. La prolactina, a su vez, provoca la liberación de dopamina de la eminencia media, constituyendo una regulación *feedback* negativa.

MRF / MIF

Los factores MRF y MIF (factores liberador e inhibidor de melanotropina) son importantes en los vertebrados inferiores para controlar la secreción de la hormona estimulante de melanina (melanotropina, MSH) del lóbulo intermediario de la hipófisis, hormona que controla la fijación y distribución de los pigmentos.

Neurotransmisores

Los principales sistemas neurotransmisores para la comunicación intercelular en el SNC son las monoaminas y los péptidos. Los neurotransmisores pueden ser liberados directamente en el sistema portal hipotálamo-hipofisario por neuronas, para modificar el efecto de las hormonas hipotalámicas en la hipófisis. Algunas aminas biogénicas actúan como neurotransmisores regulando el sistema hipotálamo-hipofisario, incluyendo las catecolaminas (dopamina, adrenalina y noradrenalina), las indolaminas (serotonina, melatonina), la acetilcolina, el ácido gama-aminobutírico (GABA) y la histamina. Se han encontrado más de cincuenta péptidos en el SNC, muchos de los cuales actúan como neurotransmisores, con efecto sobre el eje hipotálamo-hipofisario, estando ampliamente distribuidos, tanto en áreas hipotalámicas como extrahipotalámicas. Entre los más importantes se destacan los siguientes:

(a) Sustancia P: decapéptido asociado a mecanismos de dolor.

(b) Neurofisinas: polipéptidos, ricos en cisteína, que transportan oxitocina y vasopresina del hipotálamo a la hipófisis posterior.

(c) Neurotensina: péptido de treinta aminoácidos con acción sistémica sobre la liberación de histamina, el control de la presión arterial (hipotensivo), el control de la glucemia (hipoglucemiante) y los movimientos del tracto gastrointestinal.

(d) VIP (péptido intestinal vasoactivo): péptido de veintiocho aminoácidos que causa vasodilatación, siendo también hipoglucemiante y lipolítico, y favorecedor de la excreción de agua en el intestino.

(e) Angiotensina II: octapéptido derivado por degradación enzimática del angiotensinógeno, el cual es producido en el hígado. Es vasoconstrictor y regula el volumen y la presión vascular por estimulación de la secreción de aldosterona en el córtex adrenal.

(f) Colecistoquinina (CCK): péptido de 33 aminoácidos que también es secretado en el intestino. Es estimulador de la secreción pancreática y está envuelto en el mecanismo orexígeno por controlar el centro de la saciedad. Otros péptidos neurotransmisores incluyen la gastrina, la bombesina, las encefalinas, el péptido natriurético atrial y el neuropéptido Y.

Hipófisis

La hipófisis o pituitaria es una estructura altamente compleja, con grupos celulares que sintetizan diferentes tipos de hormonas. Está dividida en tres segmentos:

(a) Adenohipófisis o hipófisis anterior, que contiene grupos de células acidófilas, basófilas y cromófobas, las cuales difieren entre sí por la reacción con colorantes histoquímicos dependientes de pH.

(b) Neurohipófisis o hipófisis posterior, la cual difiere embriológica, histológica y funcionalmente de la adenohipófisis.

(c) Lóbulo intermediario. La neurohipófisis (*pars nervosa*) se origina del infundíbulo del cerebro y está unida a este por el tallo infundibular.

La adenohipófisis (*pars distalis*) se origina del techo de la boca primitiva, a partir de una invaginación llamada ducto craneofaríngeo o bolsa de Rathke. Esta bolsa está separada de la cavidad oral por una constricción. El lóbulo intermediario (*pars intermedia*) se origina a partir de la bolsa de Rathke y separa la *pars nervosa* de la *pars distalis*. En anfibios y reptiles la *pars intermedia* es importante en los cambios de coloración de la piel que ocurren como adaptación al

medio, mediante la hormona MSH. En los mamíferos su función está relacionada con la regulación nerviosa, a través de sustancias opioides. En perros y caballos, disfunción de células corticotróficas en la *pars intermedia* están associados a síndrome de Cushing. La *pars intermedia* no está desarrollada en humanos ni en aves.

Adenohipófisis

Las hormonas de la adenohipófisis son producidas por estímulo de hormonas liberadas por el hipotálamo que descargan su secreción neuronal sobre los capilares de la eminencia media, los cuales son drenados por el sistema portal hipotálamo-hipofisario y, a través del tallo pituitario, alcanzan los sinusoides de la adenohipófisis. Las hormonas de la adenohipófisis se pueden dividir en tres grupos:

(a) Derivados de la proopiomelanocortina (POMC), producidos por las células cromófobas, que incluyen la corticotropina (ACTH), las α y β lipotropinas (LPH), las α, β y γ-endorfinas (END), la Met-encefalina y la Leu-encefalina, la melanotropina (MSH) y el péptido del lóbulo intermediario similar a corticotropina (CLIP).

(b) Hormonas glucoproteicas producidas por las células basófilas que incluyen la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo-estimulante (FSH) y la hormona tirotrópica (TSH).

(c) Hormonas promotoras del crecimiento y lactogénicas producidas por las células acidófilas que incluyen la somatotropina u hormona del crecimiento (GH) y la prolactina (PRL).

Hormonas derivadas de POMC

Las células corticotrópicas de la adenohipófisis y las melanotrópicas de la *pars intermedia* pueden sintetizar el precursor proopiomelanocortina (POMC), el cual origina un grupo de hormonas. La secreción de POMC es estimulada por CRH y estrés (hemorragias, dolor, temperaturas extremas, hambre, fiebre), a través de los neurotransmisores histamina y acetilcolina, siendo inhibida por los glucocorticoides, mediante *feedback* negativo, y por la noradrenalina y el GABA. La vasopresina también estimula la secreción de ACTH de forma sinérgica con CRH. La POMC posee dos grandes fragmentos, uno N-terminal y otro 16K, que sufre modificaciones postraducción. A partir del fragmento 16K, cuyos primeros veinticuatro aminoácidos son comunes a todas las especies, se originan la corticotropina (ACTH, aminoácidos 1-39) y la β-lipotropina (β-LPH, aminoácidos 1-91). De esta última fracción, en las células melanotrópicas se originan por proteólisis sucesivas la melanotropina (α-MSH, aminoácidos 1-13), el péptido del lóbulo intermediario similar a corticotropina (CLIP, aminoácidos 18-39), la γ-lipotropina (γ-LPH, aminoácidos 1-58) y la β-endorfina (β-END, aminoácidos 61-91). De la γ-lipotropina se origina la β-MSH (aminoácidos 41-58), mientras que de la β-END se originan la γ-END (aminoácidos 61-77), la α-END (aminoácidos 61-76) y la Met-encefalina (aminoácidos 61-65). Los sitios de proteólisis están señalizados por secuencias Lys-Lys o Lys-Arg. La liberación de derivados de POMC en la *pars intermedia* obedece a un control neural, con inhibición dopaminérgica y estimulación β-adrenérgica, y no obedecen a la supresión por parte de glucocorticoides debido a la ausencia de receptores para estas hormonas.

La ACTH tiene 39 aminoácidos y se libera por pulsos frecuentes (secreción episódica), con un promedio de nueve picos en un período de veinticuatro horas. La CRH y la vasopresina, que estimulan la secreción de ACTH, actúan mediante cAMP y fosfatidil-inositol, respectivamente. Los corticoides sintéticos, como dexametasona, inhiben la secreción de ACTH directamente en la hipófisis anterior, mediante inhibición de la transcripción del gen de POMC. Los opiáceos endógenos (Met-encefalina, dinorfina, β-END) inhiben la liberación de ACTH. Existe modulación de la secreción de ACTH que obedece a un ritmo circadiano, de forma que la secreción aumenta con estímulo de la luz. La función de la ACTH es estimular la secreción de glucocorticoides en las zonas fasciculada y reticular del córtex adrenal. La ACTH prácticamente no actúa sobre la zona glomerular del córtex adrenal, de forma que la secreción de mineralocorticoides no está bajo su control. En esa zona opera el sistema renina-angiotensina-aldosterona.

El efecto de α-MSH en los mamíferos no está elucidado. Ha sido observado que este compuesto estimula la regeneración de nervios. También fue encontrada α-MSH en la pituitaria fetal, donde parece tener función en la regulación del crecimiento intrauterino. Además, se cree que la α-MSH desarrolla

un papel en la pigmentación de la piel y de los pelos, aunque se detectan altas concentraciones de esta hormona en pacientes con síndrome de Addison (hipoadrenocorticismo) y oscurecimiento de la piel, así como en perros después del tratamiento del síndrome de Cushing (hiperadrenocorticismo), con concomitante oscurecimiento del pelaje. El CLIP tiene efecto estimulador *in vitro* sobre la síntesis de DNA adrenal, o sea, estimula el crecimiento del córtex adrenal. La principal acción de la β-LPH es la movilización de triglicéridos del tejido adiposo. La β-END es un opiáceo endógeno con potente acción morfinomimética, siendo producida también en el hipotálamo. Se cree que los péptidos opiáceos cerebrales regulan la secreción de varias hormonas. Así, estimulan la secreción de prolactina e inhiben la liberación de oxitocina. Es posible que inhiban también la secreción de gonadotropinas. Los niveles de β-END se elevan por estrés o por ejercicio físico intenso.

Hormonas glucoproteicas

Las hormonas glucoproteicas de la hipófisis comprenden las gonadotropinas (FSH/LH) y la tirotropina (TSH). Las hormonas luteinizante (LH) y folículo-estimulante (FSH) son glucoproteínas que poseen dos cadenas polipeptídicas llamadas subunidades α y β, las cuales están unidas por enlaces no covalentes. La secuencia de aminoácidos de la subunidad α de LH, FSH y TSH es igual en todas las especies (92 aminoácidos) y pueden existir diferencias en el contenido de carbohidratos. La subunidad β es diferente para cada especie, siendo responsable de las características biológicas e inmunológicas. Las subunidades de forma separada no son biológicamente activas. Las placentas de la yegua y la mujer sintetizan gonadotropinas con características similares a las gonadotropinas hipofisarias. Estas gonadotropinas placentarias son la eCG (gonadotropina coriónica equina), también llamada PMSG (gonadotropina de suero de yegua preñada), y la hCG (gonadotropina coriónica humana). Esas hormonas actúan sobre las células gonadales estimulando la biosíntesis de las hormonas esteroides. La cadena α tiene entre 115 y 147 aminoácidos, dependiendo de la gonadotropina y la especie. Las cadenas α de hCG y eCG son mayores en número de aminoácidos y en contenido de carbohidratos. La cantidad de glúcidos es proporcional a la vida media de estas hormonas, de forma que, entre mayor proporción de glúcidos, mayor la vida media de la hormona (**Figura 7.9**).

Gonadotropinas hipofisiarias (LH / FSH)

Cada subunidad de las gonadotropinas posee dos cadenas de oligosacáridos unidos por enlaces N-glucosídicos, siendo sus unidades monosacáridas más comunes manosa, glucosamina, fucosa y ácido siálico, este último responsable de la vida media de la hormona ya que antes de la degradación de la hormona debe ocurrir la remoción de los residuos de ácido siálico; así, entre mayor es la proporción de ácido siálico, mayor es la media vida de la hormona (**Figura 7.9**).

La secreción de las gonadotropinas está bajo control de la GnRH hipotalámica, obedeciendo a una modulación *feedback* negativa por parte de los esteroides gonadales (estrógeno y progesterona en la hembra, testosterona en el macho). La secreción basal de las gonadotropinas es pulsátil, siendo interrumpida por un pico masivo de LH durante el estro en los mamíferos que tienen ovulación espontánea. Ese pico de LH es disparado por un pico de GnRH hipotalámica, el cual, a su vez, es causado por un aumento en la liberación de 17β-estradiol durante el período del proestro (*feedback* positivo). Los opioides exógenos causan disminución tanto de la frecuencia como de la altura de los picos de secreción de LH. En el macho el *feedback* negativo de la testosterona sobre LH depende de su aromatización a estradiol en el cerebro. La inhibina, hormona glucoproteica secretada por las gónadas (células de Sertoli del testículo, células de la granulosa del ovario), causa inhibición específica sobre la secreción de FSH de la hipófisis. La FSH en la hembra causa el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos, y en el macho participa, junto con la testosterona, en el estímulo para la espermatogénesis. La LH provoca la ovulación y el mantenimiento del cuerpo lúteo y estimula, junto con la FSH, la secreción de esteroides, tanto en el ovario (estrógenos antes de la ovulación y progesterona en el cuerpo lúteo) como en el testículo (testosterona en las células de Leydig).

Tirotropina

La tirotropina (TSH) se secreta por las células tirotrópicas de la hipófisis anterior y tiene dos subunidades, α y β, de manera similar a las gonadotropinas, unidas por varios puentes disulfuro intercatenarios conteniendo oligosacáridos en su molécula. Su peso molecular promedio es de 30 kDa, existiendo una considerable variación de la cadena β entre especies. La secreción de TSH se estimula por TRH, estrógenos, progesterona,

frío y estrés, y se inhibe por somatostatina, dopamina, glucocorticoides y hormonas tiroidianas. La secreción de TSH es modulada por las hormonas tiroidianas en un *feedback* negativo. La inhibición primaria de T_3 y T_4 es sobre la hipófisis anterior y, en menor grado, sobre el hipotálamo. La TSH no tiene efecto sobre las células parafoliculares de la tiroides (células C) y, por tanto, no regula la secreción de la calcitonina, hormona producida por esas células, cuya secreción es regulada por los niveles sanguíneos de calcio. La TSH actúa sobre las células foliculares tiroidianas, afectando múltiples vías metabólicas, como la glucólisis, la vía de las pentosas fosfato, el ciclo de Krebs, la síntesis de fosfoglicéridos y esfingolípidos, la síntesis de mRNA y proteínas, la síntesis de prostaglandinas, la captación de aminoácidos y el consumo de oxígeno. Funcionalmente, la TSH incrementa la actividad secretora y biosintética de las células foliculares de la tiroides, estimulando tres procesos: (a) la captación de ioduro por la glándula, (b) la producción y liberación de T_3 y T_4, y (c) la proteólisis de la tiroglobulina. La TSH estimula la producción de cAMP para que actúe como segundo mensajero. Por otro lado, el Ca^{2+} intracelular puede modular el efecto biológico de la TSH vía fosfatidilinositol.

Hormona del crecimiento

La hormona del crecimiento o somatotropina (GH) es sintetizada en las células somatotrópicas de la adenohipófisis. No obstante, en carnívoros, en especial perros, la GH es secretada por el tejido mamario durante el diestro en respuesta a estimulación progesterónica. Tiene 191 aminoácidos en una cadena única con peso molecular de 22 kDa y secuencia de aminoácidos que varía con la especie, siendo similar a la prolactina (PRL) y al lactógeno placentario. La similitud estructural entre GH y PRL (familia de hormonas somatolactotrópicas) lleva a creer que provengan de un mismo gen ancestral. La secreción de GH es estimulada por la somatocrinina (GHRH) y por una serie de estímulos no específicos, como estrés, ejercicio físico, ayuno o sueño. La TRH estimula la secreción de GH, actuando en forma bastante sinérgica con GHRH. La secreción de GH es inhibida por la somatostatina (SRIF), catecolaminas, somatomedinas, exceso de corticoides e hipotiroidismo. La disminución de la concentración de glucosa sanguínea estimula la secreción de GHRH y, por tanto, de GH. La insulina, siendo hipoglucémica, provoca incremento en la secreción de GH. La GH parece ser liberada a una tasa constante durante la vida del animal, aunque el crecimiento esquelético cese después de la pubertad. En general, la GH se libera en forma pulsátil, declinando con la edad.

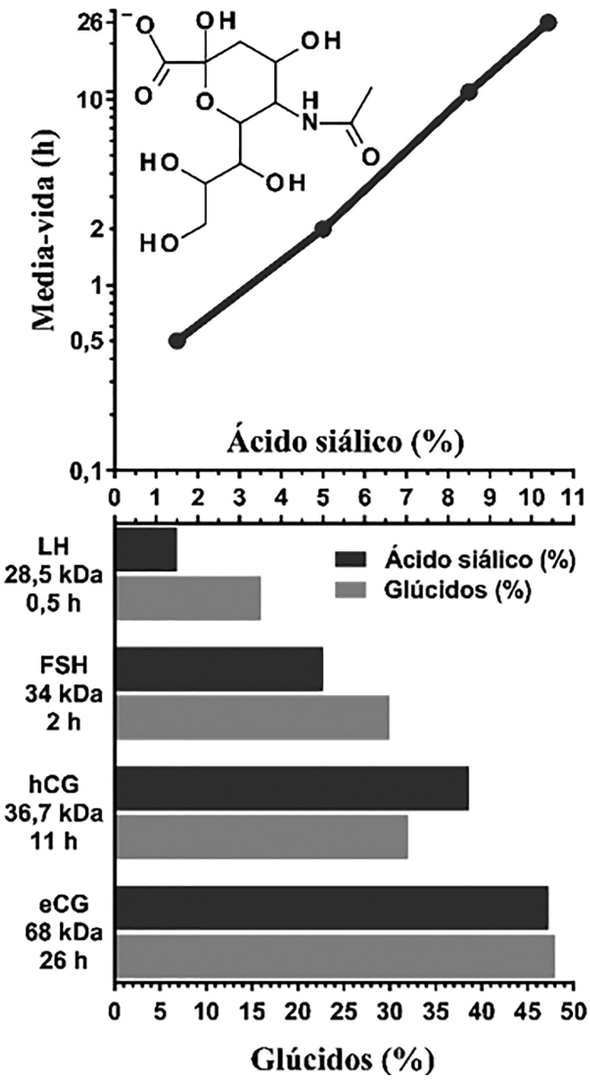


Figura 7.9 Características de algunas gonadotropinas

En la parte inferior se muestra la composición porcentual de glúcidos y ácido siálico en diferentes gonadotropinas (las respectivas masas moleculares y las medias vidas en horas están indicadas debajo de las siglas de las hormonas). En la parte superior se muestra el efecto exponencial que el incremento en el contenido de ácido siálico tiene sobre la vida media de la hormona. La estructura del ácido siálico se muestra en el gráfico superior.
LH, hormona luteinizante; FSH, hormona folículo-estimulante; hCG, gonadotropina coriónica humana; eCG, gonadotropina coriónica equina.

Los efectos de la GH pueden ser divididos en dos categorías:

(a) Acciones rápidas o metabólicas, debido a la interacción directa de la GH con sus células-blanco que resultan en lipólisis en el tejido adiposo y disminución de la utilización de glucosa, mediante resistencia de las células a la insulina.

(b) Acciones lentas o indirectas sobre cartílago, hueso y otros tejidos mediante las somatomedinas (IGF), las cuales son factores de crecimiento sintetizados en el hígado.

La estructura química de los IGF tiene aproximadamente 50 % de similitud con la insulina, lo cual sugiere que los dos compuestos provienen de un gen ancestral común. Los IGF son péptidos que, contrario a la mayoría de las hormonas peptídicas, son transportados en la sangre mediante proteínas, lo que les permite una vida media más larga, coherente con su acción promotora de crecimiento. La insulina y los IGF parecen complementarse en su acción. La insulina tiene una acción rápida y los IGF una regulación a largo plazo de los procesos anabólicos; sin embargo, los receptores de IGF son diferentes de los de la insulina, existiendo dos tipos de receptores diferenciados para IGF-I e IGF-II. El crecimiento es estimulado por las dos formas de acción de la GH, tanto directa como indirectamente, a través de los IGF. Sin embargo, puede haber reacción cruzada entre los receptores de insulina e IGF. La vida media de la GHRH es de una hora, de la GH es de nueve a dieciséis minutos y de las IGF es de tres a veinte horas.

La GH tiene regulación directa sobre varias vías metabólicas:

(a) Favorece la captación de aminoácidos y la biosíntesis de proteínas en las células, aumentando la retención de nitrógeno en el organismo y activando genes específicos para aumentar la síntesis de proteínas.

(b) Favorece la lipólisis, la movilización y la oxidación de los ácidos grasos.

(c) Desfavorece la utilización de la glucosa y la síntesis de glucógeno, o sea, es hiperglucemiante.

(d) Aumenta la retención de Na^+, K^+ y Ca^{2+} en los túbulos renales, así como el flujo de plasma renal y la filtración glomerular.

(e) Tiene acción sinérgica con ACTH, TSH y FSH/LH sobre las funciones de la mamogénesis y la lactogénesis. El uso de GH producida por tecnología del DNA recombinante en vacas lecheras (rBST) aumenta la producción de leche en 20 % - 25 %. En humanos la GH recombinante se usa terapéuticamente para casos de enanismo. En perros y gatos es posible inducir secreción de GH por el tejido mamario para el tratamiento de enanismo hipofisario mediante terapia con progestinas sintéticas.

Como la secreción de GH es pulsátil, la determinación de concentraciones en forma aislada no tiene valor diagnóstico. Los niveles basales, que normalmente pueden ser bajos, pueden ser estimulados con clonidina, xilazina, ghrelina, GHRH o TRH. Valores elevados pueden ser atribuidos a la secreción pulsátil natural o a múltiples causas ambientales, sin que esto implique fallas en la pituitaria. La determinación sérica de la concentración de IGF-1 es más fácil y representativa de la función del GH.

Prolactina

La prolactina (PRL) u hormona lactogénica se sintetiza en las células mamotrópicas de la adenohipófisis. Es la mayor hormona peptídica (199 aminoácidos, peso molecular 23,3 kD), considerando una cadena única. Existe gran variabilidad de la PRL entre especies; así, por ejemplo, la PRL de la rata difiere 40 % de la PRL bovina. La vida media de la PRL es de quince minutos. Su secreción es pulsátil, controlada por mecanismo inhibitorio a través de la dopamina, siendo estimulada por endorfinas, pues estas inhiben la secreción de dopamina. También se favorece su secreción por PRF, TRH, estrógenos, progesterona y estímulos neurogénicos, como la succión del pezón por el lactante, el ordeño, o por sensaciones de calor, dolor y estrés (**Figura 7.10**).

Los estrógenos, especialmente el 17β-estradiol, modulan los receptores de TRH, estimulando la secreción de PRL en la hipófisis y aumentando la transcripción del gen de la PRL. La secreción de PRL puede ser inhibida por derivados del ergot, como la bromocriptina, que es un agonista de la dopamina. La PRL puede también regular su propia secreción actuando directamente sobre el hipotálamo (*feedback* de asa corta sobre TRH). La PRL se secreta con fluctuaciones en los diferentes estados del ciclo reproductivo. Además de un aumento durante la ovulación, ocurre además un

aumento durante la fase luteal del ciclo ovariano en la perra y la vaca, pero no en la gata. Asimismo, ocurren grandes aumentos de PRL durante la lactación y en el parto. La PRL hace parte del complejo mamotrófico que promueve el crecimiento de la glándula mamaria, junto con GH, estradiol, progesterona, glucocorticoides y hormonas tiroidianas. También hace parte del complejo lactogénico que mantiene la lactación, junto con las hormonas anteriores, excepto progesterona, y adicionando insulina. La PRL tiene otras acciones en los vertebrados, puede afectar el equilibrio del agua y los electrolitos, el metabolismo, la función gonadal y el comportamiento.

La PRL tiene efecto luteotrópico en muchos animales; sin embargo, en la vaca la PRL no tiene propiedades luteotrópicas durante el ciclo estral, como se observa en la oveja. En varios animales la PRL parece tener efecto inhibitorio sobre la secreción de las gonadotropinas hipofisiarias; por ese motivo se sugiere que sea una hormona antigonadotrópica, pues estimula la biosíntesis de dopamina, la cual tiene efecto negativo sobre la secreción de GnRH. La PRL ha sido responsabilizada de la acción inhibitoria del amamantamiento sobre el inicio de la actividad ovariana posparto; no obstante, hay evidencias indicando que vacas en ordeño tienen niveles de PRL mayores que vacas amamantando, sugiriendo que el aumento en la secreción de prolactina durante el posparto no es la causa del problema de anestro en la lactación y que la posible vía inhibitoria de la actividad ovariana, en ese caso, sea neural vía glándula mamaria. Por otro lado, ha sido utilizada bromocriptina, agonista de la dopamina, en dosis de 80 mg por tres días, con la intención de desbloquear el supuesto efecto de PRL sobre la ciclicidad ovariana, encontrándose disminución de los niveles de PRL (de 30 a 6,8 ng/mL), pero sin reducción del intervalo del parto al primer celo posparto ni aumento de LH.

Hay mayores indicios que llevan a aceptar que es el efecto del estímulo del amamantamiento como tal, y no el mayor nivel de PRL, el responsable por la supresión de la secreción de gonadotropinas en el posparto. Es posible que la PRL interfiera directamente a nivel del ovario. En la perra, la PRL parece influir para el mantenimiento de largos intervalos interestro. Cuando perras son tratadas con bromocriptina ocurre un considerable acortamiento del período interestro. En algunas especies de aves la PRL induce comportamiento materno, como construcción de nidos y actitudes para preparar el parto. En algunas aves la PRL estimula la proliferación y descamación del epitelio del buche, produciendo una secreción llamada 'leche del buche', con importantes características nutritivas para los hijos. Esa respuesta de la PRL en promover el crecimiento del buche se ha usado como bioensayo para estudiar el efecto mitogénico de esta hormona. En las aves ha sido observada también alta secreción de PRL durante el período de incubación. La placenta de algunas especies no carnívoras (cabra, oveja, vaca, coneja, rata) produce una hormona proteica con actividad similar a la PRL y a la GH, llamada lactógeno placentario (PL) o somatomamotropina. El PL tiene propiedades

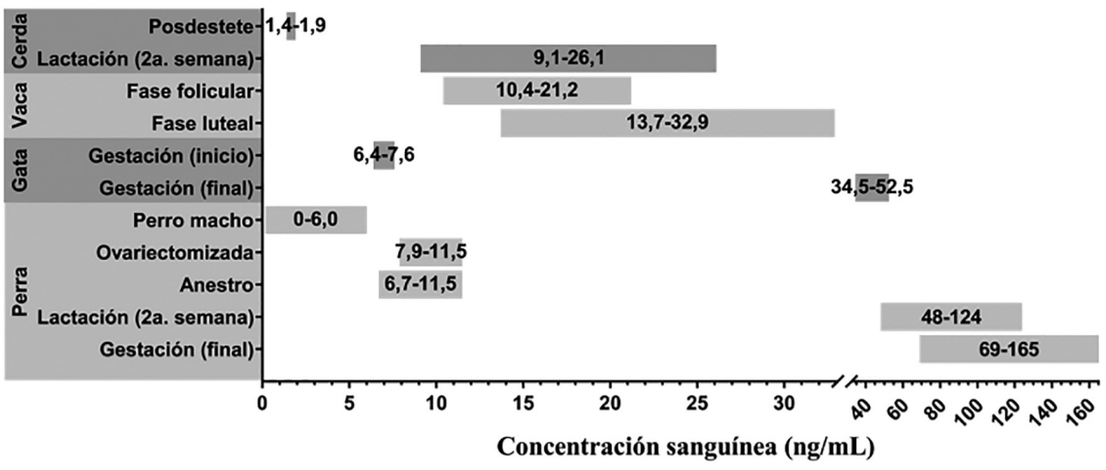


Figura 7.10 Valores de referencia de prolactina en algunas especies domésticas bajo diferentes estados fisiológicos

químicas, biológicas e inmunológicas muy parecidas a la PRL, pero los factores que regulan su síntesis y secreción son diferentes.

Neurohipófisis

La neurohipófisis consta de terminaciones axónicas de neuronas hipotalámicas que almacenan dos hormonas: la arginina-vasopresina (AVP) u hormona antidiurética (ADH) y la oxitocina (OXT). La zona está irrigada por capilares que reciben las hormonas para llevarlas a la corriente sanguínea. Las neuronas magnocelulares productoras de esas hormonas en el hipotálamo son ricas en retículo endoplasmático rugoso, aparato de Golgi y, especialmente, gránulos secretores, los cuales se localizan en el cuerpo de la neurona y en los axones que se extienden hasta la neurohipófisis. Las neuronas secretoras se encuentran en núcleos específicos del hipotálamo. El núcleo supraóptico se relaciona con la síntesis de AVP, y el núcleo paraventricular con la síntesis de OXT. Las hormonas, dentro de los gránulos, están unidas a una proteína transportadora llamada neurofisina y de esta forma son secretadas a la circulación. Existe gran similitud entre las neurofisinas de bovino, porcino y equino. La vida media de la AVP es de pocos minutos cuando está libre, pero su unión a la neurofisina la mantiene por más tiempo. La oxitocina y la vasopresina son nonapéptidos que tienen siete aminoácidos en común y sus niveles en sangre varían de acuerdo al estado fisiológico (**Tabla 7.3**). En los vertebrados no mamíferos se produce una única hormona llamada vasotocina, considerado el péptido neurohipofisario más primitivo y que contiene la siguiente secuencia: Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2.

En la mayoría de los mamíferos la vasopresina contiene arginina en la posición 8, lo que determina el nombre de arginina-vasopresina (AVP): Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2. En el cerdo la vasopresina se diferencia en que el aminoácido 8 es la lisina (lisina-vasopresina): Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH_2. Las dos Cys de estas hormonas se unen mediante un puente disulfuro, ciclando la molécula.

Vasopresina

La vasopresina (AVP) u hormona antidiurética (ADH) es liberada por estímulo de la dopamina y la acetilcolina, e inhibida por serotonina y GABA. La secreción de AVP es controlada por osmo-receptores localizados en el sistema nervioso central, los cuales son sensibles a los niveles de Na^+ y otros iones (K^+, Ca^{2+}), y por baro-receptores localizados en el arco aórtico (atrio). El principal determinante de la liberación de AVP es la osmolaridad del plasma. Por debajo de determinado umbral la secreción de AVP es inhibida para permitir la salida de agua del riñón; arriba de determinado umbral, la AVP se libera de la neurohipófisis para causar reabsorción de agua en el riñón. Se calcula que cuando la AVP está en concentraciones plasmáticas entre 5 y 10 pmol/L causa máxima antidiuresis. Normalmente la AVP se libera cuando el volumen sanguíneo varía más de 5% a 10%. Bajo circunstancias normales el volumen sanguíneo sufre variaciones no mayores de 1% - 2%, muy distantes, por tanto, de la señal liberadora de AVP a través de los baro-receptores. Por ello, la osmolaridad plasmática es más determinante que la presión sanguínea para la liberación de AVP, respondiendo a variaciones de 1% en la osmolaridad. El péptido natriurético atrial (atriopeptina) tiene acciones sistémicas que se oponen a las de AVP y fue propuesto como un modulador que actúa en el cerebro para inhibir la secreción de AVP.

La acción de la AVP es aumentar la reabsorción renal de Na^+ y, por tanto, de agua en las células de los túbulos distales y colectores (acción antidiurética) mediante la apertura de canales específicos para reabsorción de agua, las acuaporinas, después del aumento intracelular de cAMP. La medula renal hiperosmótica ejerce el gradiente osmótico que permite la reabsorción de agua cuando las acuaporinas están abiertas en la membrana luminal de las células del nefrón distal. Cuando no hay AVP esta porción del nefrón es impermeable al agua y se forma un filtrado hipotónico en la orina que normalmente alcanza una osmolaridad de 8 mOsm/L. La AVP también causa aumento de la presión sanguínea en respuesta a una disminución del volumen sanguíneo (por ejemplo, en la hemorragia y en la deshidratación) mediante la constricción de los capilares. El estímulo es captado por los baro-receptores del atrio al notar una disminución en la presión.

La AVP tiene además otros efectos sistémicos: aumenta la glucogenólisis hepática y la liberación de ACTH en la hipófisis anterior, tiene efectos sobre el comportamiento animal y participa en la oviposición en las aves, en las cuales tiene más propiedades

oxitócicas. El mecanismo de las acciones extra-renales de AVP es independiente del cAMP, siendo utilizado el calcio, mediante los receptores V1, mientras que los receptores renales V2 operan con cAMP. Algunos agentes, como barbitúricos, éter, cloroformo, morfina, acetilcolina y nicotina, al igual que sensaciones como dolor, causan liberación de AVP, lo que provoca menor formación de orina. Por su parte, el etanol causa el efecto opuesto, o sea, inhibe la liberación de AVP y causa diuresis.

Oxitocina

La estructura de la oxitocina (OXT) cambia en los aminoácidos 3 y 8 con relación a la vasopresina, los cuales son isoleucina y leucina, respectivamente: Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH_2. La secreción de la OXT es estimulada vía neurogénica (amamantamiento, ordeño, parto, dilatación cervical o vaginal, estímulo clitoriano), siendo la acetilcolina estimulante y la adrenalina y noradrenalina inhibidores. Los niveles de OXT tienen variaciones durante el ciclo ovárico en vaca, oveja y cabra, aumentando después del pico preovulatorio de LH y disminuyendo luego de la regresión del cuerpo lúteo. En la yegua el comportamiento de los niveles de OXT es parecido al de la mujer: menores en la mitad de la fase luteal y mayores antes del estro y después de la ovulación. Los estrógenos ováricos estimulan la liberación de OXT pituitaria, mientras que la progesterona la inhibe. Han sido encontrados otros factores no reproductivos, como estrés y osmolaridad plasmática, que afectan la liberación de OXT.

La OXT actúa en la contracción del miometrio durante el parto. El término 'oxitócico' proviene del griego y significa 'parto rápido'. La OXT también causa la contracción de las células mioepiteliales de la glándula mamaria durante la lactación, la cual facilita la bajada de la leche. El estrógeno es necesario en la acción de la OXT, pues estimula la síntesis de receptores para OXT, esto es, los estrógenos aumentan la respuesta del útero a la OXT. La progesterona, a su vez, inhibe esta respuesta y, entonces, durante la gestación la respuesta del útero a la OXT está muy reducida. La adrenalina, secretada en el estrés, inhibe la bajada de la leche de la glándula mamaria por bloquear la acción de la OXT, mediante la inhibición de su secreción en la neurohipófisis y también, posiblemente, por bloquear los receptores de la OXT en las células mioepiteliales. La OXT no tiene función aparente en el macho, aunque parece intervenir en el transporte de los espermatozoides en el tracto reproductor masculino. El cuerpo lúteo también secreta OXT y se halla presente en el proceso de luteólisis en la mayoría de los mamíferos. La OXT ovárica, que se secreta sin neurofisina, tiene receptores en el endometrio y su acción estimula la biosíntesis de prostaglandina $F_{2\alpha}$. La síntesis de los receptores de OXT en el endometrio es estimulada por 17β-estradiol.

7.7 Trastornos del eje hipotálamo-hipofisario

Trastornos de las células corticotrópicas

En perros, especialmente viejos, ocurren neoplasias de las células corticotrópicas hipofisarias, provocando un síndrome clínico de exceso de cortisol tipo Cushing y causando hipertrofia del córtex adrenal. Las razas Poodle y Yorkshire Terrier son las más susceptibles a esos tumores. En estos casos la acción lipolítica provoca una redistribución centrípeta del tejido adiposo, lo que causa engrosamiento del abdomen y atrofia de grasa en el tejido subcutáneo abdominal ventral. También hay gran aumento de la gluconeogénesis, lo cual está

Tabla 7.3 Intervalo de referencia de hormonas neurohipofisarias

Hormona	Especie (estado fisiológico)	Valor (pmol/L)
Vasopresina	Perro (basal)	0,5-6,0
	Perro (deshidratado)	4,7-10,7
	Cabra (basal)	0,9-1,7
Oxitocina	Perra (lactación)	15-66
	Vaca (preordeño)	0,4-2,8
	Cabra (basal)	2,5-6,5

relacionado con un apetito voraz y hepatomegalia por depósito de glucógeno. La acción catabólica de las proteínas, debido a la actividad gluconeogénica, lleva a debilitamiento y atrofia de la piel, así como de los músculos de las extremidades y del abdomen, causando dilatación abdominal, lordosis, temblores musculares y tensión esquelética para soportar el peso del cuerpo (postura de patas rectas). La hepatomegalia, como consecuencia de la deposición exagerada de grasa y glucógeno, contribuye a aumentar la distensión abdominal. En caballos, generalmente viejos, ocurren adenomas de la *pars intermedia* de la hipófisis, con aumento en la secreción de POMC y de todos sus derivados, causando hiperadrenocorticismo. Clínicamente el animal presenta hirsutismo (exceso de pelo), además de poliuria, polidipsia, apetito voraz, debilidad muscular y somnolencia.

Trastornos de la hormona del crecimiento

Enanismo pituitario

El enanismo pituitario (enanismo hipofisario, hiposomatotropismo) es caracterizado como un síndrome derivado de la deficiencia congénita de la hormona del crecimiento (GH), resultando en un crecimiento deficiente, enanismo, rarefacción pilosa y manutención del pelaje de cachorro (lanoso). Esta condición es extremadamente rara, observada en perros de la raza Pastor Alemán, asociado a una alteración recesiva autosómica relacionada con la mutación del gen del factor de transcripción Lhx3, el cual tiene efecto sobre el desarrollo adenohipofisario, aunque también ha sido relatado en perros de otras razas, así como en gatos. Algunos autores asocian la presentación del enanismo hipofisario con disturbios de desarrollo y diferenciación de la adenohipófisis, pudiendo haber quistes en la hipófisis, resultando no solo deficiencia de producción de GH, sino deficiencia aislada o conjunta de cualquiera de las hormonas hipofisarias (TSH, prolactina, FSH y LH), excepto la ACTH. El defecto genético relacionado en la patogénesis del problema conlleva, posiblemente, alguna mutación en un gen clave para la diferenciación y expansión de las células madre hipofisarias después de la diferenciación de los corticotrofos, motivo por el cual no hay secreción deficiente de ACTH.

Los perros portadores de enanismo hipofisario son de porte pequeño, aunque proporcionales, lo que los diferencia de perros con hipotiroidismo congénito, que son desproporcionados y presentan déficit cognitivo. El diagnóstico se suele realizar entre los 2 y 5 meses de edad, cuando se observa claramente el subdesarrollo del perro en comparación con los hermanos de camada. El pelo es suave y abundante debido a la manutención del pelo de cachorro y la ausencia del crecimiento de pelos primarios; sin embargo, este pelaje se cae con gran facilidad y comienza a surgir alopecia bilateral y simétrica en el tronco, las orejas, la cabeza y las extremidades. La piel se vuelve fina y muchas veces hiperpigmentada, ocasionalmente asociada a infecciones bacterianas. A pesar de no haber predilección sexual para el desarrollo de enanismo pituitario, los machos afectados evidencian monorquidia o criptorquidia, mientras que las hembras afectadas tienden a evidenciar estro persistente, con edema y secreción vulvar (durante más de cuatro semanas), atracción de machos y bajas concentraciones de progesterona, lo que es indicativo de falta de ovulación. A pesar de encontrarse inicialmente en estado de alerta, con el pasar de los meses, de acuerdo con la presencia o evolución de la deficiencia de otras hormonas hipotalámicas, los animales pueden irse volviendo más letárgicos, lentos e inapetentes, lo que puede estar asociado a la expansión de quistes hipofisarios, hipotiroidismo y/o hipoadrenocorticismo secundarios, al igual que pérdida de la función renal. Estos signos se vuelven nítidos con cerca de 2 a 3 años de edad o incluso más temprano. Durante la auscultación cardíaca pueden evidenciarse murmullos cardíacos debido a la persistencia del ducto arterioso.

En la evaluación inicial de pacientes sospechosos, a pesar de haber signos clínicos evidentes de enanismo hipofisario, es importante evaluar la posibilidad de otras enfermedades hormonales como hipotiroidismo congénito, hipoadrenocorticismo o hiperadrenocorticismo iatrogénico. De la misma forma, se debe examinar al paciente en búsqueda de alteraciones no hormonales que puedan relacionarse con baja estatura y signos clínicos como mala nutrición, enfermedades gastrointestinales, *shunts* portosistémicos, enfermedades renales, insuficiencia renal y enfermedades óseas que puedan ser causas de bajo crecimiento.

No existen alteraciones específicas en los exámenes rutinarios, a veces puede identificarse la presencia de azotemia por subdesarrollo glomerular

secundario a la deficiencia de GH y a una menor tasa de filtración glomerular por deficiencia de TSH, además de hipoalbuminemia y anemia. Los valores de T_4 se encuentran reducidos, asociados a valores bajos de TSH. La detección de valores plasmáticos bajos de IGF-1 sugiere deficiencia de GH. Perros con enanismo presentan valores bajos de IGF-1 (entre 6 y 10 nmol/L) en comparación con perros jóvenes o adultos sanos que presentan valores de IGF-1 superiores a 30 nmol/L. Lo ideal sería medir IGF-1 del paciente con enanismo y de un hermano de la camada con desarrollo normal, a fin de establecer con nitidez el grado de deficiencia de IGF-1 en el enano. No obstante, para el diagnóstico definitivo es necesaria la medición de GH sanguínea frente a una prueba de estimulación. Exámenes de imágenes radiográficas evidencian retardo en el cierre de los discos de crecimiento de los huesos largos, importante en la diferenciación del enanismo secundario del hipotiroidismo congénito, donde se observa un crecimiento epifisario reducido. Como un complemento, imágenes de resonancia o tomografía pueden evidenciar quistes hipofisarios. La prueba de estimulación de GH da un diagnóstico definitivo, a pesar de ser escasos los ensayos validados para la medición de GH canino. La determinación de GH debe ser hecha antes, quince y treinta minutos después de la administración intravenosa de algún secretagogo de GH. La clonidina (10 µg/kg) es considerada un secretagogo de elección. La xilazina (0,1 mg/kg) o la GHRH (1 µg/kg) también pueden ser aplicadas. La respuesta típica en perros con enanismo pituitario es una concentración baja de GH seguida de ningún aumento significativo luego de la estimulación. Perros sanos aumentan la secreción de GH mínimo dos-cuatro veces. Tests de provocación con CRH, TRH y GnRH pueden evidenciar la deficiente secreción de otras hormonas hipofisarias.

No hay un tratamiento efectivo para los perros con enanismo pituitario. A pesar de no existir comercialmente GH canina para administración se puede usar la GH humana, porcina o bovina en la dosis de 0,1 a 0,3 UI/kg tres veces a la semana por hasta seis semanas. Sin embargo, este tratamiento presenta una respuesta pobre, ya que al tratarse de un GH heterólogo tiene lugar la formación de anticuerpos anti-GH que neutralizan su efecto a largo plazo, además de causar complicaciones como diabetes mellitus. En este sentido, es fundamental medir semanalmente la GH, el IGF-1 y la glucemia, pues el tratamiento subsecuente dependerá de la respuesta al tratamiento inicial. Muchos animales tratados no presentan crecimiento significativo si los discos de crecimiento óseo ya se cerraron en el momento de inicio del tratamiento. El pelaje responde sobre todo al crecimiento de pelos primarios. Alternativamente pueden tratarse perros con enanismo hipofisario utilizando progestágenos sintéticos, ya que estas sustancias estimulan la secreción endocrina de GH por la glándula mamaria, tanto en machos como en hembras. La administración de acetato de medroxiprogesterona en dosis de 2,5 a 5 mg/kg cada tres semanas inicialmente, y luego cada seis semanas, resultó en crecimiento de algunos animales, así como en desarrollo de un pelaje robusto de adulto, sin causar valores excesivos de GH en el plasma, con menor incidencia de efectos colaterales. Sin embargo, la administración crónica de progestágenos está asociada a una serie de efectos indeseables como piodermatitis recidivante, prurito, anormalidades en el esqueleto, tumores de mama e hiperplasia endometrial quística, además de acromegalia y diabetes mellitus. En esta modalidad terapéutica es también importante controlar periódicamente las concentraciones de GH, IGF-1 y glucosa. Algunos animales podrán necesitar tratamiento con tiroxina, sobre todo en casos en los que sea evidente el desarrollo de hipotiroidismo secundario.

El pronóstico es reservado debido a los efectos colaterales del tratamiento y el desarrollo de deficiencias hormonales secundarias. Alrededor de los 3-5 años de edad los animales están calvos, flacos y apáticos a consecuencia de pérdida progresiva de la función renal, la expansión de eventuales quistes hipofisarios y la pérdida progresiva de las demás funciones pituitarias. En muchas ocasiones los propietarios se ven obligados a solicitar la eutanasia del animal cuando estas complicaciones surgen.

Hipersomatotropismo

El hipersomatotropismo, también llamado acromegalia o gigantismo, es un síndrome causado por la excesiva y crónica secreción de GH. El término acromegalia se refiere al crecimiento excesivo (*megalia*) de las extremidades (*acros*) típico de este síndrome. Debido al exceso de GH ocurre un estímulo continuo para el crecimiento de huesos, cartílagos, tejido conjuntivo y vísceras, llevando a signos clínicos de gigantismo y acromegalia. El gigantismo no fue documentado

en perros ni gatos adultos, pero resulta de una exposición al exceso de GH durante la infancia, cuando las epífisis están abiertas. En los pacientes con acromegalia no ocurre crecimiento longitudinal de huesos largos, sino que los huesos membranosos como los del rostro, mandíbula, nariz y vértebras tienden a aumentar de tamaño. La excesiva secreción de GH suele estar asociada a tumores hipofisarios secretores de GH, siendo más común en felinos, o a elevadas concentraciones endógenas o exógenas de progestágenos, que llevan a mayor secreción de GH por la glándula mamaria, más común en perros. En las hembras caninas problemas que lleven a exceso crónico de progesterona (diestros repetidos y prolongados en perras de edad avanzada, administración de progestágenos como inhibidores de estro) causan inducción de la expresión de GH por la glándula mamaria. La GH mamaria es estructuralmente idéntica a la GH hipofisaria y fisiológicamente tendría un efecto más local sobre la glándula mamaria, preparándola para la lactación al fin del diestro. Filogenéticamente, GH y prolactina son hormonas análogas. En los felinos el origen del hipersomatotropismo, como en humanos, está más relacionado a tumores hipofisarios, aunque en el perro ya fue descrita acromegalia secundaria a tumor hipofisario. De hecho, a pesar de que progestágenos inducen la síntesis de GH por la glándula mamaria de felinos, en esta especie la producción de GH mamaria no llega a alcanzar niveles sanguíneos al punto de llevar a estados clínicos de acromegalia. Las principales complicaciones asociadas a la acromegalia son la resistencia a la insulina con desarrollo de diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, insuficiencia cardíaca secundaria a cardiomiopatía hipertrófica, problemas neurológicos en los casos de compresión del SNC por el tumor hipofisario y artropatías degenerativas.

En todas las especies la acromegalia surge en pacientes de mediana a avanzada edad, aunque en veterinaria se observa una predilección sexual muy fuerte, al contrario de lo observado en humanos. En los gatos la acromegalia se presenta en machos en más del 90% de los casos, mientras que el 100% de los perros con acromegalia espontánea secundaria a producción mamaria de GH son hembras. El único caso descrito de tumor somatorópico asociado a acromegalia en perros se reportó en un macho. Los primeros signos clínicos evidentes en perros y gatos acromegálicos son el alargamiento de la mandíbula (resultando en prognatismo), el aumento del espacio interdental, el engrosamiento de los accidentes óseos de la cabeza y el aumento del volumen de las patas y los tejidos blandos de la cabeza y el cuello. La organomegalia y el aumento de volumen de los tejidos blandos causan ganancia de peso y abultamiento del rostro y el abdomen. La ganancia de peso puede ser evidente aun en presencia de catabolismo diabético, y el engrosamiento de la piel tiende a hacer pliegues en la región del cuello y la cabeza. La hipertrofia de órganos como corazón, riñones, lengua e hígado son típicos en felinos y pueden incluso llegar a ser palpables. En perros, signos respiratorios (intolerancia al ejercicio, jadeo excesivo y estridores respiratorios) pueden hacerse evidentes debido al mayor volumen de los tejidos de la orofaringe. Este hallazgo es más raro en gatos, pero signos respiratorios pueden ser evidentes, secundarios a edema pulmonar y derrame pleural derivados de la insuficiencia cardíaca (cardiomegalia) inducida por la GH.

Desde el punto de vista metabólico la diabetes mellitus insulino-resistente es común en perros y gatos con esta patología, ya que la GH presenta potentes efectos diabetogénicos, causando disminución en la sensibilidad periférica a la insulina. Como resultado, los animales con hipersomatotropismo pueden presentar grados de intolerancia a glucosa, signos típicos de diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia), con necesidad de tratamiento con insulina para el control del trastorno. Claudicación y dolores articulares pueden ser comunes, secundarios a artropatías degenerativas en pacientes con acromegalia crónica. Clínicamente el disturbio articular tiende a ser grave e incapacitante, siendo resultado del engrosamiento de los cartílagos articulares y ligamentos, así como de los huesos, llevando a distorsión articular. Estos signos articulares son más observados en gatos. Los felinos también sufren con mayor frecuencia cardiomiopatía secundaria a cardiomegalia, lo que provoca ruidos sistólicos, ritmo de galope y signos de insuficiencia cardíaca congestiva (ascitis, efusión pleural y edema pulmonar). Signos neurológicos son observados apenas en felinos derivados de la expansión del tumor hipofisario sobre el SNC, manifestado por estupor, convulsiones, andar en círculos, cambios de comportamiento y otras anormalidades al examen neurológico.

La poliuria y polidipsia, observadas en perros y gatos como uno de los signos más comunes

asociados a acromegalia, están asociadas no solo al estado diabético, que en hembras puede ser revertido luego de la castración y a la reducción de los niveles de progesterona y GH, sino también al aumento de volumen renal con consecuente mayor flujo sanguíneo y tasa de filtración glomerular. A pesar de ello, los gatos pueden desarrollar insuficiencia renal derivada de glomeruloesclerosis asociada a diabetes no compensada provocando azotemia, proteinuria y signos clínicos de insuficiencia renal. Con relación al aparato reproductivo, las perras con acromegalia pueden presentar, además de nódulos mamarios como consecuencia del efecto oncogénico de la GH inducida por la progesterona, hiperplasia endometrial quística debido a estimulación excesiva de la progesterona y la GH. Además de estas alteraciones, las perras expuestas a progestágenos exógenos pueden desarrollar hipoadrenocorticismo secundario, pues estos compuestos presentan efectos semejantes a los glucocorticoides y provocan la inhibición del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, causando atrofia bilateral del córtex adrenal. Gatas expuestas a los progestágenos sintéticos son susceptibles a esta alteración, a pesar de no desarrollar acromegalia.

La evaluación laboratorial del paciente acromegálico no presenta ningún hallazgo patognomónico, pero algunas alteraciones son clásicas. La eritrocitosis y leucocitosis moderadas pueden ser evidentes por el estímulo de la GH. Los felinos desarrollan diabetes mellitus en prácticamente el 100 % de los casos, encontrándose hiperglucemia y glucosuria derivadas de hipersomatotropismo. Los cánidos desarrollan hiperglucemia en una proporción menor de casos (30 % - 55 %). Los exámenes de evaluación de la función renal pueden evidenciar azotemia en casos más avanzados de insuficiencia renal, así como la presencia de proteinuria secundaria a glomerulopatía. Estos hallazgos relacionados con la función renal son comunes en felinos. Hallazgos relacionados con la función hepática también son diferentes en perros y gatos. Los felinos tienden a presentar aumento moderado de las enzimas ALT y FA, secundario al estado diabético, mientras que los perros pueden presentar aumentos de FA de las isoformas ósea e inducida por corticoides, o también secundario a lipidosis hepática. Otras alteraciones como hipercolesterolemia, hiperproteinemia e hiperfosfatemia pueden ser evidentes. La **Tabla 7.4** presenta los principales hallazgos clínicos y laboratoriales en perros y gatos con acromegalia.

El diagnóstico por imagen es útil para identificar aumentos de volumen óseo y de tejidos blandos, así como en la evaluación de las articulaciones, especialmente en felinos. Ecografías y radiografías ayudan también en la demostración de organomegalia. En felinos las imágenes de resonancia magnética y tomografía computadorizada son útiles para identificar y caracterizar tumores hipofisarios. El diagnóstico definitivo se basa en la concentración de GH en el plasma, lo que no es fácil por la escasa disponibilidad de esta determinación en cánidos. La determinación de valores elevados de IGF-1 refleja la magnitud de la secreción de GH en las últimas veinticuatro horas. A pesar de esto, puede haber falsos positivos, como en el caso de gatos diabéticos; de cualquier forma, en ausencia de pruebas disponibles de GH e IGF-1 se puede llegar al diagnóstico en perros con base en las evidencias clínicas y laboratoriales, así como el histórico de exposición a progesterona, y exclusión de hiperadrenocorticismo. La mejora clínica después de retirada la exposición a progesterona confirma el diagnóstico. En felinos el diagnóstico puede ser obtenido también mediante los hallazgos laboratoriales y clínicos, exclusión de patologías tiroideas y adrenales, detección de masas hipofisarias en imágenes de tomografía computadorizada o resonancia magnética y medición de la IGF-1 en la sangre.

Tabla 7.4 Principales hallazgos clínicos y laboratoriales en perros y gatos con acromegalia

Hallazgo clínico-laboratorial	Gatos	Perros
Poliuria y polidipsia	●●●●●●	●●●
Glucosuria/hiperglucemia	●●●●●●	●●
Hiperfosfatemia	●●●●	●
Insuficiencia renal	●●●	●
Azotemia	●●●	●
Proteinuria	●●●	●
Artropatías	●●●	●
Hipercolesterolemia	●●●	●
Signos neurológicos	●●●	●
Actividad elevada de ALT[1]	●●	●
Eritrocitosis	●●	●
Actividad elevada de FA[2]	●	●●●●
Estridores inspiratorios	●●	●●●●●

●●●●●● muy frecuente; ●●●●● frecuente; ●●●● común; ●●● poco común; ●● raro; ● muy raro.
[1]ALT: alanina transaminasa; [2]FA: fosfatasa alcalina.

En perros el tratamiento de la acromegalia consiste en evitar la exposición a progesterona o bien la castración. Los pacientes presentan respuestas clínicas buenas, aunque la diabetes mellitus puede ser permanente a pesar de haber remisión en muchos casos desde que la cirugía haya sido realizada inmediatamente después del diagnóstico de diabetes mellitus. Los signos asociados a proliferación de tejidos blandos tienden a resolverse, pero las alteraciones óseas pueden persistir.

En gatos el tratamiento debe ser dirigido a intentar resolver la hipersecreción de GH, lo cual es difícil en la mayoría de los casos. La terapia más efectiva es la radioterapia una vez los tumores hipofisarios respondan de forma excelente a esta modalidad terapéutica; sin embargo, es una tecnología poco disponible, requiere un período prolongado de permanencia en el hospital, exige anestesia, es de costo elevado y puede presentar resultados imprevisibles, además la respuesta clínica es lejana en el tiempo y puede ser recidiva después de seis a dieciocho meses.

La hipofisectomía se presenta también como una alternativa terapéutica, pero la disponibilidad de cirujanos capacitados para ejecutar el procedimiento también es limitada, además de los riesgos elevados asociados a la cirugía. Las opciones de tratamientos médicos avanzaron mucho en los últimos años. En humanos, drogas como la octreotida (análogo sintético de la somatostatina, que actúa inhibiendo la secreción de GH y reduciendo el tamaño tumoral), el pegvisomanto (antagonista del receptor de GH), la seleginina (que asimismo se utiliza en la enfermedad de Parkinson), y el L-deprenil (actúa aumentando la dopamina, inhibiendo así la secreción de GH) han sido aplicadas con éxito; no obstante, esos tratamientos en felinos han demostrado poca eficacia en la mayor parte de los casos. No hay en la literatura consultada ningún evento en el que se emplease el pegvisomanto para el tratamiento de gatos con acromegalia; sin embargo, actualmente el uso de Pasireotide (análogo sintético de la somatostatina) ha tenido resultados satisfactorios en el tratamiento de acromegalia en felinos con buena respuesta metabólica y eventual remisión de diabetes. Aun así, el elevado costo de los productos comerciales para uso diario o de larga acción (aplicación mensual) puede ser un factor limitante.

El pronóstico del trastorno en perros es favorable una vez retirada la progesterona endógena o exógena, lo que resulta en una mejora clínica del paciente, mientras que los felinos no tratados presentan una vida media alrededor de veinte meses, yendo a óbito o eutanasia por complicaciones como insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca y síntomas neurológicos.

Trastornos de la vasopresina

Tumores no funcionales de la hipófisis pueden causar compresión de las neuronas neurosecretoras y disminución de la secreción de vasopresina, lo que resulta en aumento de la excreción de orina. En esos casos el animal presenta otros signos clínicos relacionados con hipopituitarismo, tales como caquexia, depresión, ceguera, atrofia gonadal e hipoglucemia. El trastorno en la secreción de vasopresina o en su acción sobre las células-diana causa diabetes insípida y la etiología puede deberse a neoplasias, lesiones traumáticas, hemorragia, proliferación glial del sistema neurohipofisiario, o a defectos bioquímicos heredados sobre la biosíntesis de la vasopresina o de las neurofisinas. Los animales con diabetes insípida excretan grandes volúmenes de orina hipotónica que obligan a la ingestión de gran cantidad de agua (polidipsia) para evitar la deshidratación y la hiperosmolaridad de los fluidos corporales. En el perro ha sido observado el síndrome de ADH o de Schwartz-Bartter, consistente en exceso de vasopresina (hormona antidiurética) que se caracteriza por una hiponatremia.

7.8 Hormonas del córtex adrenal

En el **Cuadro 7.3** se presenta la cronología de los principales eventos relacionados con la glándula adrenal.

En los mamíferos las dos glándulas adrenales están localizadas en la cavidad abdominal craneomedial a los riñones, las cuales pueden ser separadas embriológica, morfológica y funcionalmente en dos órganos: (a) el córtex, que comprende 90 % de la masa de la glándula, y (b) la médula, con 10 % de la masa total. El córtex adrenal deriva embriológicamente del epitelio celómico, o sea que tiene origen mesodérmico, como las gónadas. La médula, a su vez, es de origen ectodérmico, proviene del esbozo simpático de la cresta neural.

Las hormonas del córtex adrenal son compuestos esteroides que tienen acción sobre el metabolismo de

glúcidos, proteínas, lípidos y minerales, mientras que las hormonas de la médula adrenal son catecolaminas y tienen efecto nervioso simpático y sobre el metabolismo del glucógeno y los lípidos. El córtex adrenal de los mamíferos está dividido en tres zonas, que de la periferia al centro incluyen:

(a) Zona glomerular, más externa, con arreglo en forma de acinos, donde se sintetizan los mineralocorticoides. En algunas especies, como en la oveja, es bastante evidente, mientras que, en otras especies, como en pequeños roedores, es difícil de distinguir.

(b) Zona fascicular, cuyas células están organizadas en columnas, dando apariencia de líneas radiales. Es la zona de mayor tamaño, comprende el 60% del córtex, donde se sintetizan los glucocorticoides.

(c) Zona reticular, más interna, adyacente a la médula adrenal, consiste en una capa de células arregladas al azar con citoplasma densamente teñido y una gran proporción de núcleos picnóticos, lo cual revela abundante mitosis. Esta zona produce principalmente andrógenos y, en menor grado, glucocorticoides, estrógenos y progesterona. Cuando las células están inactivas, aparecen vacuoladas y esponjosas debido a la presencia de lípidos, sobre todo colesterol, en su interior. Cuando hay actividad secretoria ocurre depleción de lípidos, colesterol y ácido ascórbico, y las células aparecen compactas. En las aves las glándulas adrenales están total o parcialmente cubiertas por las gónadas y el tejido medular está entreverado con el tejido cortical.

Biosíntesis de los esteroides adrenales

Los esteroides adrenales contienen en su estructura básica un núcleo de la molécula virtual ciclopentanoperhidrofenantreno. La molécula precursora de los esteroides es el colesterol, el cual debe estar en cantidades adecuadas en las células. El colesterol proviene en especial del plasma, transportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL), aunque ocurra biosíntesis de colesterol en el córtex adrenal a partir de acetil-CoA. La mayoría del colesterol es esterificado y almacenado en gotas lipídicas citoplasmáticas. Existen siete hormonas adrenocorticales reconocidas que difieren en su estructura solo en tres posiciones: C-11, C-13 y C-17; seis de esas hormonas se consideran derivadas de la corticosterona, y una —la aldosterona— es el único compuesto que contiene un grupo aldehído en C-13, que está en equilibrio con un grupo hidroxilo en C-11 formando una estructura hemiacetálica.

La síntesis de glucocorticoides es estimulada por la ACTH de la hipófisis, hormona que actúa sobre las células del córtex adrenal mediante cAMP. La elevación de los niveles de cAMP activa la enzima colesterol-esterasa, la cual hidroliza ésteres de colesterol para disponibilizar colesterol libre, que debe entrar a la mitocondria para el proceso de síntesis de esteroides. En la **Figura 7.11** se muestran las principales hormonas esteroides y sus rutas biosintéticas.

Todas las hormonas esteroides derivan de este compuesto de veintiún carbonos con dobles enlaces en C-5 y C-6, que constituye el principal regulador de la síntesis. La formación de pregnenolona es catalizada por una enzima mitocondrial propia de las zonas reticular y fascicular del córtex adrenal, la citocromo $P450_{17\alpha}$, también llamada 17-hidroxilasa/liasa, que causa la ruptura oxidativa del fragmento de seis carbonos en C-17 del colesterol, liberando isocaproaldehído y pregnenolona. A partir de la pregnenolona se puede formar progesterona mediante la enzima 3β-esteroide-deshidrogenasa/D4,5-isomerasa. La progesterona es la primera hormona en ser producida en la ruta de síntesis de las hormonas esteroides. A partir de la pregnenolona o de la progesterona varias vías son posibles para sintetizar los demás esteroides con las siguientes enzimas: (a) 17-hidroxilasa/liasa, (b) 3β-esteroide-deshidrogenasa/$D^{4,5}$-isomerasa, (c) 11β-hidroxilasa, y (d) 21-hidroxilasa. Las hidroxilasas de este sistema requieren O_2 molecular y NADPH.

La progesterona es hidroxilada en la posición 21 por acción de la 21-hidroxilasa para formar 11-desoxicorticosterona (DOC), compuesto que tiene acción mineralocorticoide. Una hidroxilación adicional en DOC sobre el C-11 por acción de la 11β-hidroxilasa produce corticosterona, que tiene mayor acción glucocorticoide. En general los corticoides hidroxilados en C-17 tienen mayor acción glucocorticoide. Las hidroxilaciones 11β y 21 parecen haber sido desarrolladas en etapas evolutivas iniciales, encontrándose en todos los vertebrados.

La síntesis de cortisol, el glucocorticoide más potente, requiere tres hidroxilaciones secuenciales en C-17, C-21 y C-11 (**Figura 7.11**). Si la posición 21 es hidroxilada antes, vía progesterona, la posición 17 no

Cuadro 7.3 Cronología de eventos relacionados con la glándula adrenal

1563	Aparece la primera referencia a las glándulas adrenales en el libro *Opúsculos anatómicos*, de Eustaquio. Inicialmente fueron vistos como órganos huecos, razón por la cual fueron llamados "cápsulas atrabilarias".
1629	Jean Riolan propone el nombre de 'cápsulas suprarrenales', o sea, encima de los riñones.
1651	Bartholinus describe la médula adrenal diferenciándola del córtex adrenal.
1732	Winslow propone el término 'adrenales', esto es, al lado del riñón.
1846	Ecker describe las zonas reticular y fasciculada del córtex adrenal.
1866	Arnold describe la zona glomerular del córtex adrenal.
1855	La función adrenal es descrita por Thomas Addison observando casos de destrucción de la glándula en humanos.
1856	Brown-Séquard demuestra que la adrenalectomía es mortal.
1839	Bergman muestra la relación de la médula adrenal con el sistema nervioso.
1856	Vulpian afirma que las células de la médula pueden ser teñidas, diferente de las células del córtex.
1889	Stilling llama a las células de la médula que pueden ser teñidas "células cromafínicas".
1898	Tigerstedt y Bergman descubren la renina.
1899	Abel identifica la adrenalina.
1904	Stoltz realiza la purificación y síntesis química de la adrenalina.
1927	Rogoff y Stewart consiguen prolongar la vida de perros adrenalectomizados administrando extractos adrenales.
1927	Hartmann propone la presencia de una hormona en el córtex adrenal que es llamada "cortina".
1927	Baumann y Kurland describen la hiponatremia y la hipercalemia en animales adrenalectomizados.
1932	Cushing describe el síndrome que lleva su nombre como un adenoma basófilo de la hipófisis.

1932	Loeb muestra que en la enfermedad de Addison (atrofia del córtex adrenal) están disminuidas las concentraciones de sodio y cloro.
1940	Lang comprueba el efecto de los corticoides adrenales sobre el metabolismo de los glúcidos al provocar un estado diabético mediante inyección de extractos corticales.
1941	Hasta ese año habían sido identificados cerca de treinta esteroides con efectos androgénicos y retentivos de sodio, de los cuales seis eran biológicamente activos.
1948	El descubrimiento de los efectos terapéuticos antiinflamatorios de la cortisona llevó a la síntesis química de varios compuestos sintéticos con mayor efecto que los naturales, entre ellos, la prednisona, la prednisolona y la dexametasona.
1949	Von Euler muestra que la noradrenalina es también una hormona de la médula adrenal, además de su papel como neurotransmisor periférico del sistema nervioso simpático.
1952	Grundy consigue aislar, por métodos cromatográficos, un compuesto con efectos simultáneos de retención de sodio y excreción de potasio denominado "electrocortina" y posteriormente rebautizado como "aldosterona".
1955	Wettstein sintetiza la aldosterona.
1955	Conn describe el hiperaldosteronismo primario.
1961	Davis y Ganong, por separado, comprueban la relación entre el riñón y la secreción de aldosterona, señalando la renina como el punto de control de la secreción de aldosterona.

se hidroxila y se sintetizan mineralocorticoides. Por tanto, la ruta más frecuente para la síntesis de cortisol es mediante la 17α-hidroxilación de la pregnenolona. La acción de la 17α-hidroxilasa, necesaria para obtener cortisol a partir de pregnenolona o de progesterona, es propia de los mamíferos. Por esa razón la mayoría de esos animales producen más cortisol que corticosterona. El cortisol predomina en el perro, el gato, el caballo, el cerdo y el humano, mientras que la corticosterona predomina en el conejo, la rata y el ratón (**Tabla 7.5**). En la vaca los dos glucocorticoides tienen cantidades similares. La relación cortisol/corticosterona es de 0,05 en el conejo, de 1 en la vaca, de 3 en el perro, de 5 en el humano, de 10 en el gato, de 15 en la oveja y de 20 en el caballo. En las aves se produce principalmente corticosterona, no encontrándose cortisol.

La biosíntesis de mineralocorticoides ocurre a nivel del retículo endoplasmático de las células glomerulares del córtex adrenal, donde no está presente la 17α-hidroxilasa. La enzima 18-hidroxilasa, que actúa sobre la corticosterona, produce 18-hidroxicorticosterona, la cual se transforma en aldosterona por acción de una deshidrogenasa que convierte el hidroxilo del C-18 en aldehído. Este grupo reacciona con el -OH del C-11 para estabilizarse como hemiacetal (**Figura 7.11**).

Metabolismo de los esteroides adrenales

Los esteroides adrenocorticales son secretados a medida que se producen, esto es, el estímulo de la ACTH para la síntesis asimismo lo es para la secreción. Los esteroides corticales son transportados en la sangre por la globulina transportadora de corticoides (CBG), también llamada transcortina, una glucoproteína con 26% de carbohidratos que tiene alta afinidad por cortisol y corticosterona. La capacidad de transporte

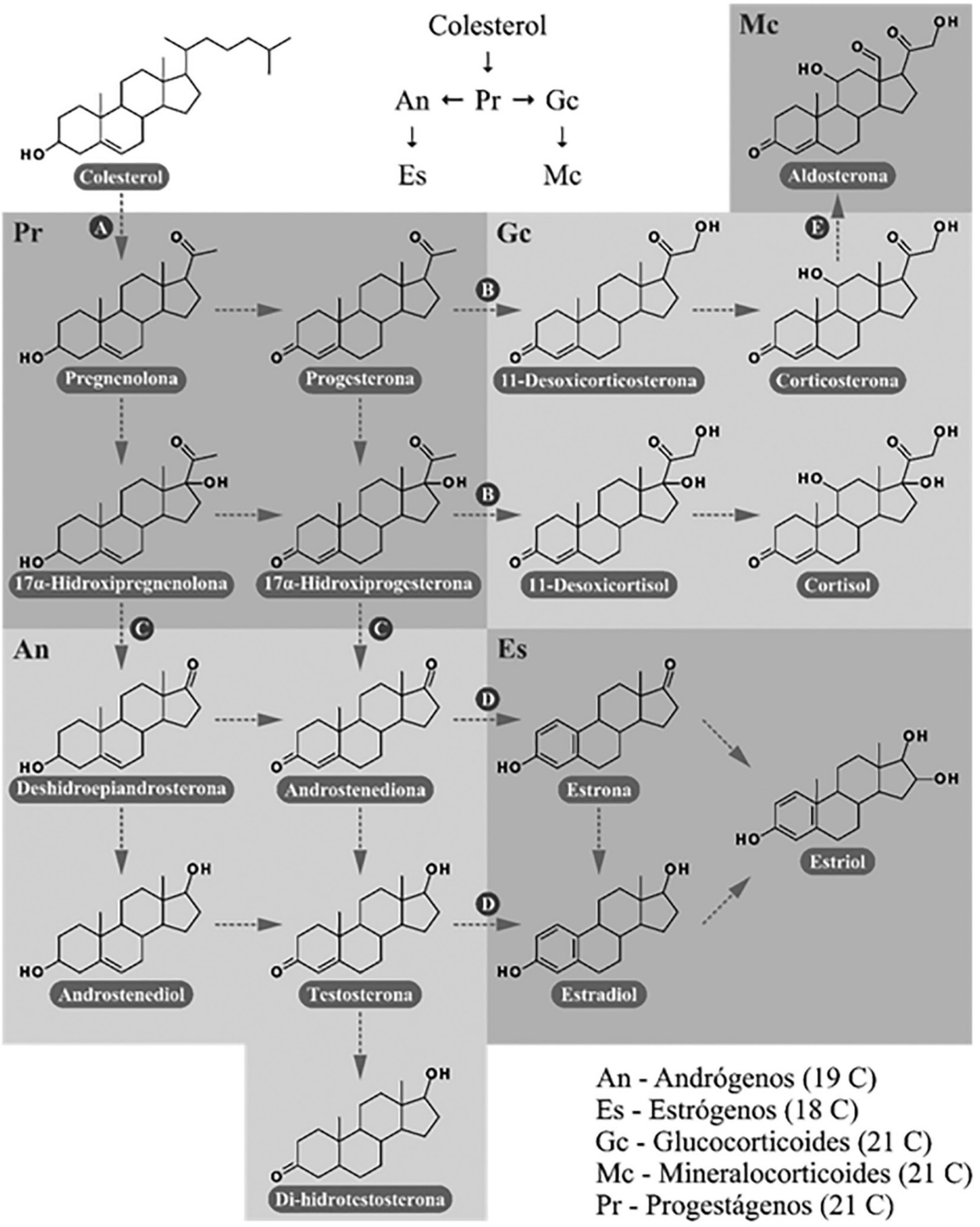


Figura 7.11 Principales compuestos intermediarios y rutas metabólicas en la biosíntesis de las hormonas esteroides

Solo los intermediarios más relevantes se muestran en esta figura, siendo que, en algunos casos, la ruta entre dos intermediarios puede incluir varias etapas. Se muestran algunas de las enzimas más importantes que actúan en las rutas biosintéticas: 17α-hidroxilasa/17,20-liase (ruta A), responsable de originar la pregnenolona, primera hormona esteroide de esta vía y que debe estar presente en todo y cualquier tejido capaz de sintetizar estas hormonas; 21-hidroxilasa (ruta B), presente en la zona fascicular de la corteza adrenal; 17,20-liase (ruta C), presente en las gónadas masculinas y femeninas; aromatasa (ruta D), presente en el folículo ovárico; aldosterona sintetasa (ruta E), presente en la zona glomerular de la corteza adrenal. (Modificada de Häggström y otros, 2014).

de la CBG es limitada, al menos 20 % del cortisol debe ser transportado con la albúmina, aunque esta tenga menos afinidad por el cortisol que la CBG. La CBG se sintetiza en el hígado por estímulo estrogénico. Como la CBG tiene también gran afinidad con la progesterona, los niveles de esta proteína aumentan durante la gestación, disminuyendo la proporción de corticoides libres y, por tanto, disminuyendo la actividad glucocorticoide.

La forma libre de cortisol, aproximadamente 10 %, es la biológicamente activa. La avidez con que el corticoide se une a su proteína transportadora es proporcional a la vida media de la hormona. Así, el cortisol, que se une con fuerza a ella, tiene una vida media de una y media a dos horas, mientras que la corticosterona, que se une débilmente, tiene vida media de menos de una hora. La aldosterona, que se une de manera débil a la albúmina, tiene una vida media de quince minutos. La degradación metabólica de los corticoides ocurre en el hígado y, en menor grado, en el riñón. Los grupos 3-ceto y 20-ceto son reducidos a grupos hidroxilo, y el anillo *A* también es reducido, perdiendo el doble enlace y quedando en forma tetrahidro. Ocurre además una conjugación con glicuronato o con sulfato. Después de esos cambios los corticoides se tornan inactivos e hidrosolubles y se excretan por el riñón (75 %) o el intestino (25 %).

La zona reticular del córtex adrenal sintetiza andrógenos, estrógenos y progesterona, siendo esta la fuente de esteroides sexuales en los animales castrados. En animales sanos la cantidad de andrógenos adrenales producidos es ínfima en comparación con los generados por las gónadas. Los andrógenos adrenales son la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la androstenediona, los cuales causan retención de nitrógeno (efecto anabólico proteico), P, K, Na e Cl. En la hembra las células de la zona reticular son la única fuente de andrógenos. En neoplasias o hiperplasias adrenocorticales se observa virilización, con excreción de gran cantidad de andrógenos en la orina.

Regulación de la síntesis de los glucocorticoides

La síntesis de los glucocorticoides es estimulada por la ACTH hipofisaria, la cual, a su vez, está regulada por la CRH hipotalámica, estando las dos

Tabla 7.5 Niveles plasmáticos de referencia de cortisol en algunos animales domésticos

Especie	Cortisol (ng/mL)
Perro	5-60
Gato	5-60
Oveja	15-22
Cabra	17-29
Toro	16-20
Vaca seca	5-8
Vaca gestante	20-32
Cerdo	27-32
Caballo	13-29

relacionadas por regulación *feedback* negativa con los glucocorticoides. La síntesis de glucocorticoides en el córtex adrenal es mínima, aun sin la estimulación de la ACTH. La CRH es un péptido de estructura similar a la vasopresina. La ACTH es una proteína de 39 aminoácidos con peso molecular de 4.700 Da; los primeros 23 aminoácidos de la ACTH son esenciales para su actividad biológica y tienen la misma secuencia en todos los mamíferos, mientras que los otros 16 varían de acuerdo con la especie.

Existe un ritmo circadiano de liberación de CRH que es afectado por la duración de horas-luz, el ciclo de alimentación, las horas de sueño y el estrés. En la mayoría de las especies la producción de glucocorticoides es mayor por la mañana y menor en la tarde y la noche, volviendo a elevarse durante el sueño. En las especies nocturnas el patrón de secreción es inverso. Perros y gatos no presentan elevación matinal de glucocorticoides. En los humanos la mayor parte de los picos secretorios ocurre entre la media noche y el inicio de la mañana. La activación de los centros hipotalámicos a través del córtex cerebral por estrés inespecífico (temperatura ambiental extrema, fiebre, hipoglucemia, inflamación, ayuno, dolor, traumas, miedo) provoca aumento de la síntesis y liberación de ACTH, llevando al consecuente incremento de la actividad adrenocortical, principalmente en la zona fascicular. La ACTH no solo produce efecto sobre la síntesis y liberación de los glucocorticoides, sino que también tiene algún efecto en la producción de aldosterona, especialmente en situaciones de estrés, al igual que estimula la lipólisis en el tejido adiposo. La

acción de la ACTH es rápida: pocos minutos después de su liberación se observa aumento de corticoides en la sangre con el pico de secreción cerca de una hora después.

El mecanismo de acción de ACTH es a través de receptores de membrana estimulando la adenilciclasa, la cual provoca aumento tanto en los niveles de cAMP como de cGMP. El cAMP activa una proteína-quinasa que, a su vez, activa la enzima colesterol esterasa, la cual actúa sobre ésteres de colesterol (forma de almacenamiento del colesterol) para dar colesterol libre. El cGMP también activa proteína-quinasas, estimulantes de las enzimas de la esteroidogénesis. Cuando la ACTH actúa sobre las células del córtex adrenal se observa depleción de colesterol y de ácido ascórbico. La depleción de ácido ascórbico no está bien entendida, pero se cree que actúa suministrando equivalentes reductores para las hidroxilaciones NADPH dependientes en la esteroidogénesis.

Regulación de la síntesis de los mineralocorticoides

La regulación de la síntesis de aldosterona es diferente de los glucocorticoides. Sus reguladores primarios son el sistema renina-angiotensina y los niveles de sodio y potasio sanguíneos. También están involucrados los niveles de la ACTH y mecanismos neurales. Son necesarios niveles elevados de ACTH, como en el caso del estrés, para inducir la liberación de aldosterona. El estímulo aferente es probablemente una disminución del flujo renal (hipovolemia, deshidratación, hemorragia, falla cardíaca) o una baja en los niveles plasmáticos de sodio. Ese estímulo resulta en liberación de renina de las células yuxtaglomerulares del riñón.

El sistema renina-angiotensina está relacionado con el control de la presión sanguínea y el metabolismo de los electrolitos. Dos proteínas están directamente envueltas: (1) renina, enzima proteolítica producida en las células yuxtaglomerulares de las arteriolas aferentes de los glomérulos del riñón por acción de varios estímulos: baja presión sanguínea o disminución del volumen sanguíneo, detectados por baro-receptores de las células yuxtaglomerulares, hiponatremia, hipercalemia, estímulo de neurotransmisores β_1-adrenérgicos, vasopresina y prostaglandinas. Las células de la mácula densa de los túbulos distales del riñón contienen quimio-receptores que detectan concentraciones de Na^+ en el fluido del túbulo, de forma que un aumento en la concentración tubular de Na^+ estimula la liberación de renina. (2) Angiotensinógeno, globulina α_2 del plasma sintetizada en el hígado por estímulo de glucocorticoides y estrógenos y que es hidrolizada en puntos específicos por la renina, produciendo un decapéptido llamado angiotensina I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-NH_2. La angiotensina I circulante sufre remoción de dos aminoácidos de su extremo N-terminal por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), glucoproteína presente en el plasma, los pulmones y las células endoteliales, para formar un octapéptido, la angiotensina II. Este compuesto, con vida media de un minuto, es un potente estimulador de la síntesis de aldosterona en la zona glomerular del córtex adrenal, además de ser vasoconstrictor y causar elevación de la presión arterial. La angiotensina II posee receptores de membrana en las células glomerulares del córtex adrenal, los cuales aumentan en número debido a concentraciones elevadas de K^+ y por la propia angiotensina II. El mecanismo de acción de la angiotensina II envuelve Ca^{2+} y fosfatidilinositol. La angiotensina II tiene efecto *feedback* negativo sobre la síntesis de renina y activa dos puntos de la vía biosintética de la aldosterona: (a) la conversión de colesterol a pregnenolona, y (b) la oxidación de corticosterona para producir aldosterona. La angiotensina III, heptapéptido originado por remoción de un aminoácido de la angiotensina II, tiene los mismos efectos que esta. Las angiotensinasas plasmáticas inactivan las angiotensinas II y III. La secreción de aldosterona también es sensible a cambios en el nivel sanguíneo de potasio, pequeños aumentos de este electrolito provocan estímulo en su secreción, mientras que la disminución de potasio reduce la secreción de aldosterona.

Efectos metabólicos de los glucocorticoides

Todos los esteroides actúan a nivel del núcleo en las células-blanco para realizar los efectos metabólicos. La primera etapa implica la unión del esteroide como una proteína receptora en el citosol; después, el complejo hormona-receptor sufre translocación al núcleo, donde estimula la transcripción de genes que codifican para enzimas específicas, las cuales incluyen enzimas de la gluconeogénesis. Estos receptores son específicos para cada esteroide, aunque puede ocurrir unión competitiva entre ellos. Los glucocorticoides también pueden

interactuar con receptores de membrana en los tejidos linfoides para ejercer sus efectos inmunosupresores. Debido a esas etapas, la actividad de la hormona puede demorar de treinta minutos a algunas horas para hacer evidentes sus efectos. Los efectos de los corticoides pueden ser impedidos por inhibidores de la transcripción (actinomicina D) o de la traducción (polimicina).

Los glucocorticoides, en especial el cortisol, tienen efecto metabólico sobre los glúcidos, los lípidos y las proteínas, además de efecto reductor sobre el número de linfocitos y eosinófilos, así como efecto inhibidor sobre la cicatrización y el crecimiento. El efecto primario en los glúcidos es el aumento de gluconeogénesis y síntesis de glucógeno. Después de la adrenalectomía se observa hipoglucemia y depleción del glucógeno hepático. El cortisol inhibe la utilización de la glucosa periférica y estimula el almacenamiento de glucógeno, por estimular la enzima glucógeno sintetasa. La acción del cortisol causa una hiperglucemia que puede provocar glucosuria. El aumento de la glucosa sanguínea obedece al estímulo de la gluconeogénesis, mediante activación de las enzimas claves de esta vía, o sea, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. En los rumiantes con cetosis los glucocorticoides son usados como tratamiento debido a su acción hiperglucemiante.

El cortisol causa aumento del nitrógeno urinario, lo que revela aumento del catabolismo proteico. El nivel de los aminoácidos en la sangre se eleva y su degradación aumenta, llevando a mayores concentraciones plasmáticas de urea. El anabolismo proteico se inhibe y, por tanto, el crecimiento se ve deprimido. El tratamiento crónico con glucocorticoides provoca debilitamiento muscular debido a la pérdida de proteínas del músculo.

En el tejido adiposo los glucocorticoides estimulan la lipólisis por facilitar la acción de las hormonas activadoras de la lipasa (glucagón, adrenalina, GH). La administración crónica de cortisol provoca hiperlipidemia e hipercolesterolemia, además de una redistribución centrípeta de la grasa corporal que provoca abdomen pendulante y aumento de las extremidades. La tendencia a la hiperglucemia causada por la acción de los glucocorticoides es contrabalanceada por el aumento en la secreción de insulina, la cual, a su vez, estimula la síntesis de grasa. Ese hecho, y el aumento del apetito provocado por los glucocorticoides a nivel central, explican la redistribución centrípeta de la grasa y la distensión abdominal cuando se administran en forma crónica. Además, los glucocorticoides regulan la actividad de la enzima lipasa hormona-sensible, provocando lipólisis periférica. La lipólisis provoca aumento de la oxidación de los ácidos grasos y, por tanto, incremento de acetil-CoA, su producto final. La acumulación de acetil-CoA es un estímulo para la gluconeogénesis, pues este metabolito es activador de la enzima piruvato carboxilasa.

En el hígado los glucocorticoides aumentan las enzimas que intervienen en la desaminación y transaminación de los aminoácidos, fuentes para la biosíntesis de nueva glucosa.

Otros efectos importantes de los glucocorticoides son:

(a) Efecto antinflamatorio y antialérgico, uno de los usos más explotados en la práctica clínica, pues disminuye la hiperemia, la respuesta celular, la migración de neutrófilos y macrófagos al lugar de inflamación, la exudación, la formación de fibroblastos (y, por tanto, de tejido conectivo) y la liberación de histamina. Se cree que los glucocorticoides estabilizan las membranas de los lisosomas impidiendo la salida de las enzimas hidrolíticas, evento observado en la inflamación. El efecto estabilizador se extiende a la membrana plasmática, donde ocurre inhibición de la enzima fosfolipasa A_2, la cual libera ácido araquidónico, precursor de prostaglandinas y leucotrienos, compuestos envueltos en la respuesta a la inflamación. Posiblemente inhiben también la formación de quininas reduciendo la vasodilatación, la tumefacción y el dolor propios de la inflamación. Por su acción sobre los fibroblastos los glucocorticoides retardan la cicatrización.

(b) Efecto inmunosupresor, por depresión de las respuestas inmunológicas que acompañan las infecciones y los estados alérgicos y anafilácticos. Aún no está dilucidado el papel fisiológico de este fenómeno inmunosupresor, pero parece ser un mecanismo mediante el cual dejar disponible al organismo proteínas que pueden ser usadas para la gluconeogénesis. Sin embargo, este efecto se asemeja a un asa *feedback* negativa del cortisol sobre el sistema imunológico, ya que procesos inflamatorios pueden activar la secreción de CRH, ACTH y cortisol. La administración de dosis

elevadas de glucocorticoides deprime los niveles de anticuerpos circulantes, aparentemente por inhibir la síntesis de mRNA en los linfocitos y por aumento en la degradación de las inmunoglobulinas ya producidas.

(c) Efecto sobre el tracto gastrointestinal, ocasionando aumento en la secreción de ácido clorhídrico y de pepsina gástricos y de tripsina pancreática, disminuyendo también la secreción de moco cuando se administra en forma crónica, lo que favorece el desarrollo de úlceras gastroduodenales.

(d) Efecto sobre los huesos, por reducir la matriz ósea cuando se administran de forma crónica. Esto se ve agravado por la menor absorción de calcio a nivel intestinal y por el aumento de la excreción renal de Ca y P, facilitando la presentación de osteoporosis y fracturas.

(e) Efecto permisivo sobre algunas hormonas, por ejemplo, glucagón y adrenalina, las cuales requieren la presencia de glucocorticoides para realizar su actividad. El hiperadrenocorticismo causa inhibición reversible de la secreción de GH.

(f) Efecto sobre el equilibrio hídrico mejorando la diuresis. El tratamiento prolongado de glucocorticoides puede llevar a pérdida exagerada de sodio y agua. Los glucocorticoides aumentan la tasa de filtración glomerular en los riñones e inhiben la secreción de ADH en la neurohipófisis. La deficiencia de glucocorticoides provoca reducción del flujo renal y cardíaco, hipotensión y entrega deficiente de O_2 a los tejidos.

(g) Efecto sobre la placenta por parte de los glucocorticoides de origen fetal, que reducen la síntesis placentaria de progesterona y aumentan la de estradiol, lo que, a su vez, promueve la síntesis y liberación de PGF_{2a}, hormona que sensibiliza el útero a la oxitocina provocando luteólisis. Tal efecto compromete los glucocorticoides en el desencadenamiento del parto.

(h) Efectos de los glucocorticoides sobre las células sanguíneas: los glucocorticoides por lo general inducen neutrofilia madura, eosinopenia, linfopenia, monocitosis o monocitopenia. La neutrofilia inducida por corticoides fue descrita en la mayoría de las especies animales, siendo resultado de diversos factores como menor migración de neutrófilos de la sangre a los tejidos y el *pool* marginal y aumento de la liberación por la médula ósea. La elevación de las concentraciones de corticoides en la sangre genera una respuesta monocítica, pero varias diferencias son observadas en el tipo de respuesta entre las especies animales. En perros, generalmente, ocurre monocitosis, pero este hecho es inconsistente en vacas, equinos y gatos. En contraste, monocitopenia ocurre en humanos y animales de laboratorio. La monocitopenia puede ser atribuida a un aumento del desvío de células al compartimiento marginal, inhibición de la liberación por la médula ósea o disminución de la producción, mas los mecanismos de monocitosis aún son desconocidos. Se cree que en caninos la monocitosis puede ser resultado de la movilización de las células del *pool* marginal a la circulación. En las especies en que ocurre monocitosis inducida por corticoides la respuesta puede ser bifásica, esto es, monocitopenia en la fase inicial del estrés seguida de monocitosis. En el estrés agudo físico o emocional la eosinopenia se atribuye a los niveles elevados de catecolaminas y corticoides. El mecanismo de la eosinopenia inducida por corticoide no está bien establecido; varios mecanismos han sido propuestos, incluyendo disminución en la liberación por la médula ósea, lisis intravascular, secuestro en algunos órganos del sistema fagocítico mononuclear (bazo e hígado), y aumento de la migración tisular. Esos efectos son probablemente mediados a través de neutralización de la histamina circulante inducida por corticoide, reducción en la liberación de histamina por los mastocitos y mayor liberación de diversas citocinas como resultado de la linfólisis. Además, los esteroides pueden inducir apoptosis de los eosinófilos. La linfopenia inducida por corticoides puede ser atribuida a la linfólisis en la sangre y en los tejidos linfoides, al aumento del desvío de linfocitos de la sangre a otros compartimientos del organismo, o ambos. Además, los corticoides inhiben la síntesis de algunas citocinas (IL-1 y IL-2), impidiendo una respuesta impune adecuada (efecto inmunosupresor).

Efectos metabólicos de los mineralocorticoides

La aldosterona, mineralocorticoide más importante, controla el volumen y la composición catiónica del fluido extracelular mediante la regulación del equilibrio de Na^+ y de K^+. Todos los corticoides son activos para reabsorber sodio y cloro en los túbulos renales y excretar esos iones por las glándulas sudoríparas y salivares y por el tracto gastrointestinal; no obstante,

el más potente de todos es la aldosterona, la cual es de cuatrocientas a mil veces más activa en esta acción que el cortisol. Aproximadamente 30% de la aldosterona en la sangre está en forma libre, 50% unida débilmente a la albúmina y 20% unida a la transcortina. La aldosterona actúa principalmente sobre las células epiteliales del tracto gastrointestinal y sobre los túbulos distales y colectores del riñón, aunque también pueden ser encontrados receptores para aldosterona en los ductos salivares y en las glándulas sudoríparas. Los receptores de aldosterona además unen DOC y tienen baja afinidad (1% - 2%) con cortisol. El esteroide sintético 9α-fluorocortisona se une con fuerza a los receptores de aldosterona, teniendo acción mineralocorticoide más prolongada (**Figura 7.12**). Los antagonistas de la aldosterona, como espironolactona, también se unen a los receptores de la aldosterona, bloqueándolos. La aldosterona actúa, como los demás esteroides, a nivel nuclear, incrementando la síntesis de enzimas que tienen que ver con los procesos de transporte activo (bomba de Na^+-K^+ ATPasa). El efecto provoca aumento en la reabsorción de sodio, cloro y agua, y en la excreción de potasio, H^+, Mg^{2+} y amonio (NH_4^+).

Corticoides sintéticos

Los corticoides sintéticos son usados farmacológicamente como agentes antiinflamatorios y en condiciones crónicas como alergias y afecciones de la piel. También están indicados en el hipoadrenocorticismo, en tratamiento de choque anafiláctico, para reducción del edema cerebroespinal o provocar inmunosupresión. Los corticoides sintéticos son más potentes que los corticoides naturales, lo cual ha sido explicado por varias razones:

(a) Mayor afinidad por el receptor citoplasmático.

(b) Mayor capacidad del complejo esteroide-receptor para actuar en el núcleo.

(c) Menor tasa de degradación.

(d) Menor afinidad por la transcortina.

Entre los corticoides sintéticos más conocidos están: prednisona, prednisolona, dexametasona, 9α-fluorocortisona, betametasona y triamcinolona. La introducción de un núcleo de flúor en C-9 confiere mayor actividad retentiva de sodio, aunque con poca actividad antiinflamatoria, mientras que la introducción de un doble enlace entre C-1 y C-2 le da mayor actividad antiinflamatoria (**Figura 7.12**). Hay inhibidores esteroidales que actúan uniéndose al receptor, como es el caso de la espironolactona (aldactona), que inhibe la acción de aldosterona. También es el caso de la progesterona, que puede ser antagonista de los glucocorticoides en algunos tejidos, lo que explicaría la sensibilidad disminuida del cortisol en los últimos períodos de la gestación. La prednisona inhibe la secreción de LH en perros, provocando disminución en la secreción de testosterona.

7.9 Trastornos del córtex adrenal

Hipoadrenocorticismo (síndrome de Addison)

El hipoadrenocorticismo es un trastorno caracterizado por la pérdida de la capacidad secretora del córtex adrenal, con déficit en la producción de glucocorticoides y mineralocorticoides. Es una condición rara en perros y menos común todavía en felinos. En perros la frecuencia estimada es de un caso entre cada dos mil a tres mil animales. El hipoadrenocorticismo también es conocido como síndrome de Addison, en homenaje a Thomas Addison, primer investigador que describió en humanos un conjunto de síntomas asociados a hipofunción adrenocortical, en 1855. Este síndrome es potencialmente fatal si no se reconoce y se trata inmediatamente, en especial frente a una crisis addisoniana aguda. En el 75% de los casos puede deberse a una atrofia idiopática bilateral (primaria), con etiología aparentemente ligada a una reacción autoinmune. También puede producirse secundariamente a infecciones, tuberculosis, anemia perniciosa, diabetes mellitus, hipotiroidismo, o por causas iatrogénicas debido a tratamientos prolongados con glucocorticoides o por exceso de mitotano en pacientes con hiperadrenocorticismo. La enfermedad de Addison por efecto secundario a una deficiencia de ACTH es rara. En ese caso, no está afectada la producción de aldosterona y por tanto se presenta únicamente con deficiencia selectiva de producción de glucocorticoides. Es más frecuente en hembras que en machos, en proporción de 7:3, y la mayoría de los animales se presentan entre 2 y 7 años de edad al diagnóstico. Algunas razas parecen tener mayor riesgo,

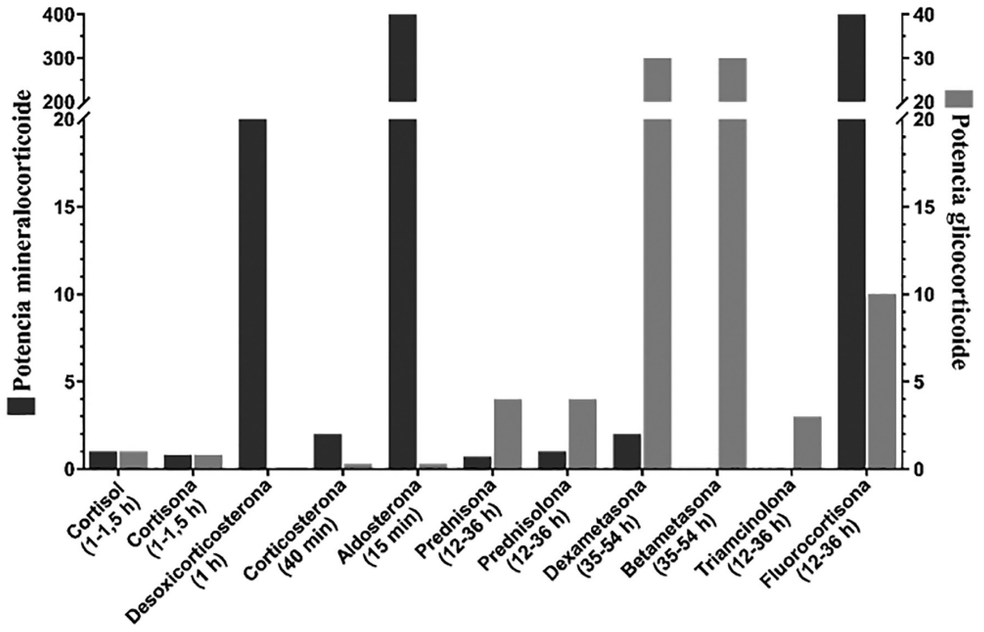


Figura 7.12 Potencia relativa y vida media de algunos corticoides naturales y sintéticos

Las potencias mineralocorticoide y glicocorticoide se refieren al cortisol (valor 1 para ambas). La vida media está indicada entre paréntesis junto al nombre del corticoide.

como Poodle, Pastor Alemán, Dogo Alemán, San Bernardo, Basset Hound, Bearded Collie, Rottweiler, Gran Danés y West White Highland Terrier.

Etiopatogenia del hipoadrenocorticismo

Cerca del 95% de los casos de hipoadrenocorticismo canino son primarios, ya que el problema está localizado en la glándula adrenal. La pérdida de por lo menos 90% del parénquima es condición para que tenga lugar la manifestación clínica. En la mayoría de los casos la causa es una destrucción idiopática o inmunomediada del córtex adrenal. En los casos inmunomediados es posible detectar infiltrados mononucleares en ambas glándulas, así como anticuerpos antielementos de la glándula adrenal. La presentación de este síndrome presenta predisposición genética bien definida en perros de las razas Poodle Standard y Bearded Collies, siendo identificado un patrón de transmisión recesiva. Otras causas menos comunes de hipoadrenocorticismo primario son la destrucción de la glándula por enfermedades infecciosas e infiltrativas, así como destrucción secundaria en hemorragias por coagulopatías. El hipoadrenocorticismo secundario es raro, estando asociado a la destrucción o pérdida de la capacidad secretoria de ACTH por adenohipófisis. En estos casos ocurre deficiencia aislada de glucocorticoides sin afectar la secreción de aldosterona. El hipoadrenocorticismo iatrogénico puede ser resultado del uso crónico de drogas como mitotano o trilostano utilizadas en el tratamiento de hiperadrenocorticismo, así como por drogas como etomidato, imidazólicos, metiraponas y mifepristona. Otra posibilidad de presentación iatrogénica es por la interrupción abrupta de la administración de glucocorticoides luego de un largo período de uso de este tipo de medicamentos. El uso crónico de corticoides exógenos lleva a inhibición de la función del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, de forma que, en el caso de una interrupción del tratamiento de forma abrupta, ocurre una deficiencia de la función glandular.

Signos clínicos del hipoadrenocorticismo

El hipoadrenocorticismo se manifiesta en animales jóvenes o de mediana edad, aunque existen casos en perros entre 2 a 14 años. La presentación inicial puede variar desde un colapso agudo con choque hipovolémico e hipoperfusión generalizada, hasta signos más leves, vagos y poco específicos, como lo

observado en el hipoadrenocorticismo crónico. La presentación clásica de una crisis addisoniana aguda incluye colapso agudo, hipovolemia y deshidratación intensa, vómitos, diarrea, dolor abdominal, hipotermia con extremidades frías, y muchas veces puede haber hemorragia gastrointestinal severa con melena y hematemesis. Es muy sugestiva de hipoadrenocorticismo la bradicardia, aun en presencia de hipovolemia, o la ausencia de taquicardia en estas situaciones. Este tipo de presentación representa un cuadro de urgencia y delicado, pero la respuesta a una terapia adecuada y bien aplicada tiende a ser favorable.

Animales con el síndrome en la forma crónica presentan una historia clínica de un "mal que viene y va", es decir, parece existir una enfermedad que deja al animal en mala condición, y que cesa y retorna periódicamente. En estos casos se observa el desarrollo de los signos clínicos después de exposición a situaciones de estrés, y existe el relato de que el animal mejore luego de la administración de fluidos o corticoides. Los pacientes con hipoadrenocorticismo crónico tienen histórico de signos clínicos vagos y nada específicos, envolviendo problemas gastrointestinales, renales o neurológicos. De forma general, tienden a presentar una combinación de signos como letargo, debilidad, depresión, inapetencia, vómitos y diarreas, con la severidad variando bastante entre individuos. Puede haber poliuria y polidipsia debido a la natriuresis inducida por la ausencia de aldosterona, pero en la mayoría de las veces esta no es la queja principal de los propietarios. Otros signos neuromusculares como megaesófago, calambres y temblores pueden estar presentes. Además, individuos con deficiencia de glucocorticoides poseen una tasa de filtración glomerular reducida y sufren de oliguria, probablemente debido a la secreción aumentada de hormona antidiurética. La compensación vascular de la hipovolemia está perjudicada y es posible un colapso vascular. La deficiencia de aldosterona ocasiona pérdida de sodio, cloro y agua, así como acumulación de potasio e hidrógeno (acidosis). Los pacientes con la forma crónica tienden a mostrarse hipovolémicos, deshidratados y con los demás signos relacionados con la presentación aguda, aunque de menor intensidad. La hipotensión observada en casi la totalidad de los pacientes con diagnóstico de hipoadrenocorticismo es debida a la deficiente secreción de aldosterona, así como a la ausencia del efecto vasopresor de los glucocorticoides.

Los problemas clínicos más comunes observados en animales con hipoadrenocorticismo son: debilidad, letargia, emesis, deshidratación, hipovolemia, anorexia, inapetencia y depresión. Signos menos comunes son: pérdida de peso, bradicardia, poliuria, polidipsia, hematemesis, melena, hematoquecia, diarrea, endurecimiento muscular, hipotermia, temblores, convulsiones y choque. En las últimas décadas viene creciendo la documentación sobre casos de hipoadrenocorticismo atípico, en el cual hay manifestaciones clínicas de deficiencia aislada de glucocorticoides, sin afectar las concentraciones de sodio y potasio. A pesar de haberse documentado que estos pacientes no secretan aldosterona, la etiopatogenia de esta presentación parece estar relacionada con la capacidad de los individuos de mantener una respuesta adaptativa a una deficiencia de aldosterona. Clínicamente los signos asociables a deficiencia de mineralocorticoides (hipotensión, hipovolemia, bradicardia, acidosis metabólica) no son observados, predominando los signos de apatía, hiporexia, vómito y diarrea.

Diagnóstico del hipoadrenocorticismo

Es evidente una diversidad de alteraciones laboratoriales en pacientes con hipoadrenocorticismo; sin embargo, frente a un paciente sospechoso, la simple detección de un hemograma con presencia de linfocitosis y/o eosinofilia, o la ausencia de un hemograma de estrés en un paciente que definitivamente no está bien, es un fuerte indicativo de hipoadrenocorticismo. El estudio eritrocitario muestra anemia no regenerativa, a pesar de que a veces la médula aún consigue evidenciar alguna regeneración de acuerdo con la severidad. La deshidratación puede subestimar la magnitud de la anemia por la mayor concentración de eritrocitos en un plasma hipovolémico. Las principales anormalidades clínico-patológicas observadas en perros con hipoadrenocorticismo se pueden resumir así:

Alteraciones hematológicas: anemia no regenerativa, linfocitosis, eosinofilia y ausencia de linfopenia y eosinopenia en un animal bajo estrés.

Alteraciones de la bioquímica clínica: hipercalemia, hiponatremia, hipocloremia, hiperfosfatemia, azotemia prerrenal, hipercalcemia, hipoglucemia, acidosis metabólica (baja pCO_2 y HCO_3^-), hipoproteinemia, hipocolesterolemia e hipoalbuminemia. Sin embargo,

en los casos atípicos no se documentan hipercalemia, hiponatremia, hipocloremia o acidosis metabólica.

El 20% - 30% de los perros presentan anemia normocítica normocrómica. Cerca del 20% de los perros presentan eosinofilia absoluta y el 10% linfocitosis absoluta. Hiponatremia (83% de los perros), hipercalemia (90%) e hipocloremia (46%) son hallazgos típicos en los animales con deficiencia de aldosterona. Tales anormalidades electrolíticas en un perro con letargo, debilidad, anorexia, vómito y/o diarrea podrían indicar hipoadrenocorticismo, aunque no sean específicas. La determinación de ACTH plasmática es necesaria para poder diferenciar el hipoadrenocorticismo primario sin anormalidades electrolíticas del hipoadrenocorticismo secundario o del hipoadrenocorticismo atípico.

Cerca del 20% de los perros con hipoadrenocorticismo están hipoglucémicos. Las alteraciones bioquímicas más comunes implican la presencia de azotemia, hiponatremia, hipercalemia e hipocloremia, siendo la hipercalcemia y la hipoglucemia menos comunes. La hiponatremia y la hipercalemia son resultados directos de la deficiencia de aldosterona, la cual tiene por función estimular la reabsorción de sodio a partir de la luz tubular de la nefrona distal al tiempo que estimular la excreción urinaria de potasio. De esta forma el paciente pasa a reabsorber menor cantidad de sodio y acumula potasio en el organismo. A pesar de esto, muchas veces es difícil demostrar la hiponatremia (valores de sodio menores que 135 mmol/L) y la hipercalemia (valores de potasio menores que 5 mmol/L). Así, la evaluación de la relación sodio:potasio es una herramienta bastante útil. Un valor considerado normal es una relación Na:K mayor que 30:1. Valores menores de 27:1 son sugestivos de hipoadrenocorticismo. Mientras más baja es la relación, mayor es la probabilidad de que se trate de hipoadrenocorticismo. Igualmente, el ion cloruro queda bastante reducido (menor que 100 mmol/L), acompañando al sodio.

Estas alteraciones pueden ser enmascaradas por tratamientos iniciales con fluidoterapia. Muchos casos que no presentan disturbios electrolíticos pueden ser pacientes con cuadros iniciales de hipoadrenocorticismo, donde aún queda una secreción residual de mineralocorticoides, o en casos atípicos en que solo hay deficiente producción de glucocorticoides. En estos casos la administración de mineralocorticoides no es necesaria inicialmente, pero puede volverse obligatoria a medida que el trastorno evoluciona en cuestión de semanas o meses. También, una gran variedad de condiciones patológicas asociadas al sistema urinario, digestivo o al hígado puede provocar alteraciones hidroelectrolíticas semejantes a las observadas en el hipoadrenocorticismo, lo que hace del diagnóstico un desafío, sobre todo porque trastornos gastrointestinales, renales o hepáticos son mucho más comunes que el hipoadrenocorticismo. Otros factores que pueden alterar el perfil hidroelectrolítico son pancreatitis, estadios finales de insuficiencia cardíaca, derrames cavitarios, neoplasias y gestación. Dos factores confundidores adicionales son la falsa hipercalemia inducida por la hemólisis de muestras (liberación de potasio intracelular) y la hipercalemia de la raza Akita.

El electrocardiograma es una herramienta útil en la evaluación del paciente con hipoadrenocorticismo, siendo un indicador sensible de hipercalemia al evidenciar alteraciones como aumento en la amplitud de la onda T, menor amplitud o ausencia de la onda P, reducción del intervalo QT y aumento del intervalo PR.

La hipoperfusión renal asociada a la hipotensión provocada por el síndrome de Addison ocasiona azotemia prerrenal e hiperfosfatemia; además, la pérdida urinaria de sodio acaba volviendo el intersticio renal hipotónico, lo que lleva a dificultades en la reabsorción de agua en la nefrona distal. Por esta razón, buena parte de los pacientes presentan orina diluida en el urianálisis. Estos dos aspectos hacen que muchos pacientes con hipoadrenocorticismo sean erróneamente diagnosticados con enfermedad renal primaria severa. Hipoproteinemia, hipocolesterolemia y hipoalbuminemia pueden ocurrir frente a la mayor pérdida intestinal de proteína y menor síntesis por el hígado, así como hipoglucemia, consecuencia de la menor gluconeogénesis por la falta de glucocorticoides. La magnitud de la hipoproteinemia puede ser enmascarada por la deshidratación de la misma forma que el estudio eritrocitario.

Los exámenes de imágenes son relativamente útiles por presentar algunas características compatibles, pero no específicas en la mayoría de los casos. Las radiografías evidencian microcardia, reducción en las áreas de la vena cava caudal, microhepatía y reducción del calibre de la arteria pulmonar craneal.

El megaesófago también puede ser evidenciado en radiografías. La ecografía es útil en demostrar menor volumen tanto de hígado como de bazo, así como una reducida espesura de las adrenales, una de las principales diferencias entre un perro normal y uno con hipoadrenocorticismo; no obstante, la mayoría de los hallazgos citados son evidencias de hipotensión, no exclusivas de hipoadrenocorticismo.

El diagnóstico definitivo del hipoadrenocorticismo se obtiene al demostrar falta de respuesta en una prueba de estimulación con ACTH, o una respuesta débil (cortisol pos-ACTH menor de 50 ng/mL). Las muestras sanguíneas deben ser obtenidas antes y una hora después de la administración de 1-5 µg/kg de cosintropina (ACTH sintético) para la medición de cortisol. La determinación de cortisol basal no ofrece un diagnóstico definitivo, a pesar de que la concentración puede estar baja (menor que 5 ng/mL), y valores por encima de 20 ng/mL para un perro en crisis descartan el hipoadrenocorticismo. En el animal normal la ACTH provoca aumento significativo en la secreción de cortisol. Es fundamental que la prueba sea realizada antes de administrarse corticoides diferentes de dexametasona (prednisona, prednisolona, hidrocortisona), pues estos corticoides sintéticos presentan reacción cruzada con el cortisol en los inmunoensayos. A pesar de definir el diagnóstico, el test no diferencia el origen del problema (primario, secundario o iatrogénico). En la insuficiencia adrenal primaria la producción reducida de cortisol resulta en secreción aumentada de la ACTH hipofisiaria, no habiendo aumento en respuesta a la ACTH exógena. La medición sérica de ACTH puede distinguir el origen entre primaria (ACTH mayor que 200 pmol/L) y secundaria (ACTH menor que 5 pmol/L). La anamnesis e historia clínica ayudan en la identificación de casos iatrogénicos (uso excesivo de mitotano o trilostano para tratamiento de HAC, o discontinuidad del uso crónico de corticoides). La medición de aldosterona sérica antes y después de la estimulación con ACTH puede ayudar en la determinación de pacientes con hipoadrenocorticismo primario (baja concentración de aldosterona) y pacientes con hipoadrenocorticismo secundario o atípicos (concentración de aldosterona relativamente normal).

Tratamiento del hipoadrenocorticismo

El objetivo del tratamiento en el hipoadrenocorticismo es restablecer la homeostasis del animal y así controlar los desarreglos metabólicos del paciente. La insuficiencia adrenocortical aguda requiere tratamiento inmediato. Los animales en crisis addisoniana necesitan rápida intervención, pues muchas veces el choque hipovolémico puede evolucionar a falla múltiple de órganos y óbito si no se trata rápidamente. El tratamiento a largo plazo tiene como objetivos mantener el equilibrio del sodio y el potasio en el organismo, así como evitar complicaciones secundarias a la deficiencia de glucocorticoides.

Los pacientes en crisis addisoniana son susceptibles a la administración de fluidos, así como a la rápida estabilización del sodio, lo que puede generar una serie de síntomas neurológicos secundarios a daños estructurales irreversibles en el SNC. Un protocolo básico para intervención es la administración de solución salina al 0,9% a una velocidad de 20-40 mL/kg/hora por vía intravenosa en las primeras tres horas, seguida de la administración de 5 mL/kg/hora. El sodio sanguíneo debe ser monitoreado para garantizar que no aumente más de 10 a 12 mmol/L en las primeras veinticuatro horas, pues aumentos mayores podrían inducir lesiones neurológicas (mielinólisis). La terapia parenteral deberá ser mantenida hasta que el paciente esté hidratado, con la función gastrointestinal regulada, y que esté bebiendo y comiendo por su cuenta, para iniciar la terapia por vía oral. Hasta ese momento algunas sugerencias de protocolos incluyen la administración de succinato sódico de hidrocortisona (SSH) a 1 mg/mL en infusión continua a la dosis de 0,5 mg/kg/hora. Como opción a este protocolo, que exige la disponibilidad de una bomba de infusión, se puede administrar SSH en bolos, en dosis de 5 a 20 mg/kg, IV, cada seis horas. Opciones con otros glucocorticoides incluyen la administración de succinato sódico de prednisolona en dosis de 4 a 20 mg/kg, IV, o también la de un bolo de dexametasona en dosis de 0,1 a 2 mg/kg, IV, en ambos casos seguido de fosfato sódico de dexametasona en dosis de 0,05 a 0,1 mg/kg, diluido en el fluido que está siendo administrado, IV, a lo largo de doce horas. Como la actividad mineralocorticoide de estos glucocorticoides es reducida, se puede emplear la administración de fludrocortisona (0,01 mg/kg cada doce horas).

La administración de glucosa intravenosa es necesaria solo si hay hipoglucemia detectada, y en estos casos la administración de fluidos con 2,5% de glucosa IV son suficientes (adicionar 25 mL de

glucosa 50% a cada frasco de 500 mL de solución salina). La respuesta glucémica del paciente deberá ser monitoreada. La corrección de la hipercalemia ocurre espontáneamente con la administración de fluidos IV; sin embargo, en los casos en que hay hipercalemia muy pronunciada se puede adicionar bicarbonato de sodio (1 a 2 mEq/kg, de forma lenta, por vía IV) al fluido. No se recomienda el empleo de insulina para bajar el potasio en pacientes con crisis addisoniana por el riesgo de causar hipoglucemia; sin embargo, si la hipercalemia es demasiado elevada (mayor que 9 mmol/L) y hay bradicardia aun después de las primeras dos-tres horas de fluidoterapia, el empleo de gluconato de calcio (1 mL/kg a lo largo de diez minutos) con monitoreo por ECG es indicado.

En casos de hipoadrenocorticismo crónico, luego de la estabilización inicial del paciente, o en los casos en que el diagnóstico es hecho en un animal clínicamente estable (sin vómitos ni diarrea), es necesario mantener la reposición de mineralocorticoides y glucocorticoides para garantizar la vida del animal. Los animales afectados presentan menor capacidad de modificar el balance del sodio y el agua en el organismo y por eso jamás se debe administrar una dieta pobre en sodio a estos animales. Algunos autores defienden la adición de sal en la dieta, pero este punto es polémico en la literatura, pues la mayoría de los autores la considera innecesaria. En los casos donde la fludrocortisona no está siendo efectiva sola, se puede adicionar sal en dosis de 0,1 g/kg/día en la dieta. Los protocolos para el tratamiento médico del hipoadrenocorticismo incluyen la administración de mineralocorticoides semiselectivos como la fludrocortisona en dosis aproximada de 0,1 mg/5 kg de peso corporal (dividida en dos veces al día), asociada a la administración de prednisona de acuerdo con la necesidad (0,1 a 0,5 /kg/día, o en días alternados).

Es recomendable la administración dividida de mineralocorticoides dos veces al día para proteger al animal de perder la dosis total en caso de vómito. La dosis de glucocorticoides debe ser aumentada siempre que el paciente vaya a pasar por situaciones de estrés (visita al veterinario, peluquería, paseos más largos, viajes en coche, ausencia de los dueños). Otra opción puede ser el uso del pivalato de desoxicorticosterona (1,5-2,2 mg/kg cada veintiocho días) por vía subcutánea o intramuscular, con reposición de prednisona según la necesidad. El paciente se debe mantener clínicamente estable, con una calidad de vida normal y manteniendo el peso corporal regulado.

El pronóstico de estos pacientes es excelente si se identifica el trastorno y trata de forma adecuada. Estos animales tienden a tener vidas normales, sin embargo, es importante alertar a los dueños de que las medicaciones jamás deben ser descontinuadas y, frente a enfermedades no adrenales o episodios de estrés, es fundamental aumentar la dosis de glucocorticoides, pues el paciente no presenta ninguna reserva funcional. También, el monitoreo de pacientes con hipoadrenocorticismo atípico, en búsqueda de los primeros signos que puedan indicar la necesidad de mineralocorticoides en el tratamiento, es un punto importante de ser observado. La supervivencia de animales con este trastorno es de cinco años después del diagnóstico.

Hiperadrenocorticismo (síndrome de Cushing)

El hiperadrenocorticismo o síndrome de Cushing es una de las endocrinopatías más comunes en el perro, y ocasional en el caballo y el gato. Se refiere al conjunto de anormalidades clínicas y bioquímicas que resultan de la exposición crónica a concentraciones excesivas de glucocorticoides. Este trastorno fue descrito por primera vez en humanos por el neurocirujano Harvey Cushing en los años 1930, quien describió una serie de pacientes que presentaban signos clínicos de hipercortisolismo asociado a pequeños tumores basofílicos en la hipófisis. Los niveles elevados de cortisol causan los signos clínicos, pero la anormalidad puede estar en las glándulas adrenales (primaria o adrenal dependiente, HAD) o en la hipófisis (secundaria o hipófisis dependiente, HHD). El disturbio puede ser causado también de forma iatrogénica por la administración prolongada y excesiva de corticoides sintéticos.

En perros, los primeros relatos datan de los años 1970 y, a pesar de ser relativamente común en las rutinas clínicas, el hiperadrenocorticismo es una molestia considerada rara. La presentación en felinos es menos común, con algunas decenas de casos descritos en el mundo. El término síndrome de Cushing se aplica más correctamente a los casos asociados a tumores hipofisarios. El hiperadrenocorticismo acomete por lo general a perros de mediana edad a viejos. Las razas

más predispuestas son Poodle, Dachshund, Yorkshire Terrier, Pastor Alemán, Beagle, Labrador y Boxer. Las hembras son afectadas más frecuentemente. El HHD es más común en perros de poco peso (75 % tienen menos de 20 kg), mientras que el tumor adrenal es común sobre todo en perros con más de 20 kg.

Etiopatogenia del hiperadrenocorticismo

El hiperadrenocorticismo (HAC) puede ser de presentación natural o iatrogénica. En el HAC de presentación natural, en cerca del 80 % al 85 % de los casos, el problema es una excesiva secreción de ACTH por la adenohipófisis, caracterizando un hiperadrenocorticismo ACTH dependiente o pituitario dependiente (HPD) o hipófisis dependiente (HHD). Como resultado ocurre una hiperplasia bilateral del córtex de las adrenales, resultando excesiva la secreción de cortisol y eventualmente otras hormonas/precursores esteroideos. Se considera que más del 90 % de los perros con HPD presentan tumores hipofisarios, generalmente adenomas, originarios de la adenohipófisis. La peculiaridad de la secreción de ACTH por la *pars intermedia* es que se encuentra bajo control neural, con preferencia a través de inhibición dopaminérgica. La secreción de ACTH por la adenohipófisis está bajo control hipotalámico por la CRH.

Las alteraciones patológicas observadas en el HPD son básicamente tres:

(1) microadenomas (menor que 10 mm), que afectan más del 80 % de los perros con HPD.

(2) macroadenomas (mayor que 10 mm), que afectan del 10 % al 15 % de los perros con HPD. A pesar de presentar crecimiento lento, estos tumores comprimen el resto de la glándula y a veces se proyectan dorsalmente para el hipotálamo, lo que podría llevar a signos neurológicos (raro). Pueden ocurrir adenocarcinomas también, aunque su presentación parece poco común.

(3) La insuficiencia primaria en la respuesta al *feedback* negativo promovido por el cortisol. En estos casos no hay neoplasia asociada a la mayor secreción de ACTH, sino se cree que puede haber relación con desórdenes hipotalámicos que provocan hiperestimulación de las células corticotróficas de la adenohipófisis, o el existir una hipersecreción de CRH por el hipotálamo, o que la secreción de ACTH aumente por disminución del *tonus* dopaminérgico, aumentando la liberación por la *pars intermedia*. De cualquier forma, el HPD siempre está asociado a la ruptura del eje de control hipotálamo-hipófisis-adrenal, ya que la mayor producción de cortisol deja de inhibir la secreción de ACTH. Clínicamente es menos importante definir la patología hipofisaria, a menos que existan signos neurológicos, o que estos surjan durante el tratamiento.

El hiperadrenocorticismo por tumor adrenocortical corresponde al 15 % de los casos; en ellos, ocurre excesiva secreción del cortisol independientemente del estímulo por la ACTH, que suprime la secreción de CRH y ACTH. La mitad de los tumores son benignos y la mayoría son unilaterales, caracterizando un hiperadrenocorticismo adrenodependiente (HAD). Los adenomas adrenocorticales son tumores pequeños y bien circunscritos, no invasivos ni metastásicos, y en cerca del 50 % se presentan calcificados. Los carcinomas adrenocorticales son grandes, invasivos (vena frénico-abdominal, cava abdominal, aorta, vasos renales), hemorrágicos y necróticos, que muchas veces producen metástasis en los pulmones, hígado y riñones. Frente a la hiperproducción de cortisol por el tumor ocurre inhibición de la secreción de ACTH por la adenohipófisis, pues no hay ninguna anormalidad hipotalámico-hipofisiaria. Como consecuencia ocurre la atrofia del córtex de la adrenal contralateral y del córtex ipsilateral no afectado por el tumor. Esto es importante clínicamente cuando se programa una adrenalectomía unilateral como forma de tratamiento, pues el paciente se vuelve hipoadrenocorticoideo a partir de la retirada de la adrenal tumoral.

Otras causas de HAC incluyen tumores adrenales asociados al HPD, tumores adrenales bilaterales y síndromes de secreción de ACTH ectópico. El HAC alimentario es consecuencia de la expresión ectópica de receptores para péptidos gastroentéricos como el GIP (péptido inhibitorio gástrico). En esos casos hay secreción aumentada de corticoides después de las comidas que resultan a largo plazo en signos clínicos del hiperadrenocorticismo. El síndrome de ACTH ectópico es más común en humanos, con solo tres casos publicados en perros hasta el año 2018. Además de estas causas, el hiperadrenocorticismo iatrogénico es motivo de presentarse pacientes con signos clínicos de hipercortisolismo. Cada animal presenta una sensibilidad diferente a una misma dosis de glucocorticoides

exógenos. Tratamientos prolongados y con dosis mayores (enfermedades autoinmunes y alérgicas) pueden provocar más fácilmente signos clínicos de hipercortisolismo, muchas veces limitando la continuidad del tratamiento inicial; no obstante, un paciente con hipercortisolismo iatrogénico, a pesar de manifestar clínicamente el exceso de glucocorticoides circulantes, en verdad puede ser considerado un paciente con hipoadrenocorticismo iatrogénico, ya que una vez retirada la fuente exógena de corticoides ambas adrenales están atrofiadas y una crisis addisoniana se puede precipitar.

Además de los efectos sistémicos del exceso de glucocorticoides, se inhiben otras funciones hipofisarias e hipotalámicas, resultando en hipotiroidismo secundario reversible (por inhibición de la secreción de TSH), anestro en las hembras o atrofia testicular en los machos (por inhibición de FSH y LH), y baja estatura en perros en crecimiento (por inhibición de GH).

Signos clínicos del hiperadrenocorticismo

El hiperadrenocorticismo (HAC) es un trastorno de progresión lenta e insidiosa, siendo difícil la detección de los síntomas por los propietarios, quienes muchas veces creen que las anormalidades que el animal viene presentando se deben solamente a la edad (dificultades para subir escaleras o atravesar obstáculos, cansancio, jadeo, ganancia de peso). Además, los animales con hiperadrenocorticismo no se presentan clínicamente enfermos. A pesar de ocurrir en perros de cualquier raza, Poodle, Dachshund y Terrier presentan mayor predisposición a desarrollar HAC. Perros de razas pequeñas están más propensos a desarrollar HPD, mientras que perros de porte mayor están más propensos a desarrollar HAD. Con relación a la edad, se considera el HAC un trastorno en perros de mediana edad a viejos, con amplitud de presencia de 2 hasta 16 años, promedio de 7-9 años para HPD y amplitud de 6 hasta 16 años con promedio de 11-12 años para HAD. Es muy rara la presentación de HAC en perros con menos de 2 años pese a ser documentada en algunos casos. Las hembras parecen estar levemente más predispuestas al desarrollo de HAC.

Difícilmente un perro con HAC irá a presentar todos los signos clínicos esperados, muchas veces presentan solo uno o dos. La magnitud dependerá del tiempo de progresión del disturbio, así como de características individuales.

Los siguientes son signos clínicos más frecuentes en perros con HAC: poliuria, polidipsia, polifagia, aumento de volumen abdominal, letargia, debilidad muscular, jadeo intenso, reducción de tolerancia a ejercicios, intolerancia al calor, obesidad, alopecia, rarefacción pilosa, hiperpigmentación cutánea, calcinosis cutánea, acné (piodermatitis, costras), exoftalmia, fragilidad vascular, anestro persistente y atrofia testicular.

La poliuria observada en el HAC en cerca del 85 % de los casos se debe a tres mecanismos integrados: (a) aumento del flujo sanguíneo renal, con consecuente aumento de la tasa de filtración glomerular; (b) inhibición de la secreción de ADH por los valores elevados de cortisol, y (c) interferencia del cortisol en la sensibilidad renal a la ADH. Frente a la mayor pérdida hídrica y consecuente deshidratación, centros hipotalámicos dispuestos para el control de la osmolaridad detectan el aumento de osmolaridad asociada a la deshidratación y activan el mecanismo de la sed, con consecuente polidipsia. Aun así, muchos pacientes no consiguen mantener la hidratación y se presentan deshidratados al examen clínico. La polifagia es un efecto clásico del cortisol, aumentando el apetito, lo que puede ser observado en más del 90 % de los perros con HAC. En el centro del apetito del hipotálamo el cortisol estimula la expresión del neuropéptido Y (NPY), una potente sustancia orexígena. Como resultado, los pacientes con HAC presentan un apetito intenso, voraz e insaciable. La anamnesis puede registrar que comen basura, pelean con otros perros por causa de comida o a veces piden el alimento a sus dueños de forma agresiva.

El abdomen pendular (*potbellied*) es el principal marcador clínico del HAC canino, está presente en más del 80 % de los perros con HAC. Cuatro razones explican este patrón morfológico: (a) la hepatomegalia secundaria a la síntesis y almacenamiento exagerado de glucógeno hepático ejerce presión sobre la pared abdominal ventral; (b) el cortisol, a pesar de lipolítico, cuando está en grandes cantidades promueve acumulación de grasa intraabdominal; (c) la musculatura abdominal se encuentra atrofiada y con tono reducido sin poder soportar la presión de las vísceras abdominales; (d) la mayor producción de orina distiende la vejiga, que no consigue ser vaciada completamente en cada micción porque el músculo detrusor está sufriendo un excesivo catabolismo, dejando la vejiga flácida.

La debilidad muscular es resultado directo del efecto del cortisol; por ser una hormona gluconeogénica parte de sus efectos es movilizar aminoácidos para la síntesis de glucosa en el hígado. Como resultado tiene lugar un catabolismo de la musculatura esquelética, llevando el paciente a desarrollar dificultades para transponer obstáculos, como subir escaleras, entrar al coche o subir a un sofá o a una cama, asociado a hipotonía muscular. Estos signos son verificados en el 75 % al 85 % de los casos.

De igual forma, la intolerancia a los ejercicios acompaña los signos, no solo por la limitación muscular, sino también por la limitación respiratoria y, a veces, cardiovascular. La mayor tasa respiratoria asociada a la queja de jadeo continuo es derivada de una serie de factores asociados al HAC. El hígado se encuentra aumentado de volumen, comprimiendo el diafragma y limitando la capacidad de expansión de la cavidad torácica. El cortisol también aumenta la deposición de grasa dentro del tórax, asociado a la proteólisis de la musculatura respiratoria y a la mineralización del pulmón observada en estos casos. Así, la única estrategia para mantener una adecuada ventilación es el aumento de la frecuencia respiratoria; por dicha razón, estos animales presentan intolerancia al calor. Esas limitaciones en conjunto llevan el paciente a fatiga fácil y letargo. Estos perros no toleran grandes caminatas y a veces la debilidad muscular puede llegar al punto de no tener capacidad para mantenerse en pie. El letargo y la reducción de la actividad física reducen el gasto calórico de los individuos, lo que asociado a la ingestión exagerada de alimentos resultan en ganancia de peso y obesidad. Debido a la edad avanzada y al sobrepeso identificados en una proporción significativa de casos de HAC, muchos de estos animales pueden presentar alteraciones articulares, como artrosis y artritis; sin embargo, el hipercortisolismo enmascara los signos relacionados con estos problemas en función de sus efectos antiinflamatorios. Además, el catabolismo promovido por el cortisol en exceso puede muchas veces predisponer a rupturas de ligamento cruzado y luxaciones de rodilla, sin mayor manifestación de dolor frente al problema. El tratamiento del HAC puede muchas veces 'desenmascarar' estos signos y el paciente pasa a presentar claudicación, posterior a la normalización del cortisol. Los propietarios deben ser avisados sobre esto antes de iniciar el tratamiento.

Con relación a los aspectos reproductivos, ocurre mayor secreción de andrógenos por la adrenal en los casos de HAC. Como resultado, elevadas concentraciones de dehidroepiandrosterona (DHEA) son secretadas para la circulación, siendo convertida en los tejidos periféricos en androstenediona, causa de mayor *feedback* negativo sobre hipotálamo-hipófisis, lo que resulta en menor secreción de gonadotropinas LH y FSH, además de efecto negativo del cortisol *per se* sobre la secreción de gonadotropinas. En los machos el resultado es una discreta feminización, asociada a menor libido, atrofia testicular y menores concentraciones de testosterona de origen testicular. En las hembras el mismo proceso ocurre y el resultado de la menor secreción de LH y FSH es supresión del ciclo estral y anestro persistente. En general, el período de anestro corresponde al tiempo de evolución del HAC y puede ser un dato para estimar el tiempo de evolución del trastorno. La mayor producción de andrógenos adrenales promueve virilización en las hembras afectadas, algunas de ellas llegan a presentar hipertrofia de clítoris.

Perros con HAC presentan una serie de marcadores cutáneos que pueden estar presentes en diferentes grados de acuerdo al tiempo de evolución del trastorno y características raciales e inmunológicas. Los signos cutáneos son bastante comunes y asociados a prurito. La alopecia/rarefacción pilosa observada en los perros con Cushing es un signo relatado por los dueños con bastante frecuencia y en la mayor parte de los casos es nítido un patrón de alopecia simétrica bilateral. Este patrón es resultado de la atrofia de los folículos pilosos promovida por los efectos catabólicos del cortisol. Perros con pelos más gruesos presentan cierta resistencia a la alopecia debido a los folículos más robustos. Se observa atrofia del aparato pilosebáceo adyacente al folículo y deposición de queratina en los folículos atrofiados (comedones, barros o puntos negros). La presentación de esos comedones es más común alrededor de los pezones y la vulva, pero pueden ocurrir en cualquier parte del tronco y el abdomen. Este patrón de alopecia puede ser discreto, tendiendo a preservar las extremidades, así como ser más generalizada, afectando flancos, periné y abdomen.

Uno de los principales marcadores cutáneos del hiperadrenocorticismo canino es la atrofia cutánea, resultado directo de los efectos catabólicos del cortisol. El mismo principio que lleva a la atrofia

de la musculatura se aplica también en la piel, donde las proteínas constitutivas de este tejido (colágeno y elastina) sufren un excesivo catabolismo a favor de la gluconeogénesis. La atrofia cutánea es un hallazgo frecuente en los pacientes afectados y se hace más nítida en la piel ventral del abdomen. Además, muchas veces la piel se muestra con una elasticidad menor de la normal debido a la atrofia y puede llegar a romperse por tracción. Este afinamiento cutáneo permite la fácil visualización de los vasos subcutáneos, que se encuentran bastante dilatados, caracterizando la telangiectasia, lo que, asociado a la apatía y poca movilidad de los perros con HAC, puede llevar a la formación de úlceras de decúbito. Estas lesiones pueden infectarse y necesitar de cuidados intensivos, además de tratamiento para facilitar la resolución de las lesiones.

El débil estado inmunológico también predispone a manifestación de demodicosis y dermatofitosis en perros adultos. Estas enfermedades son comunes en cachorros y su identificación en perros adultos puede indicar estados de inmunosupresión como en el HAC. Cerca del 30 % de los perros con HAC presentan signos de disqueratosis o seborrea. Prurito moderado a intenso en un perro con HAC no tratado puede estar asociado a escabiosis (sarna). La calcinosis cutánea es una alteración poco común, aunque aparece bien descrita asociada al HAC canino. Estas lesiones forman placas firmes e irregulares, sobre o bajo la piel, como si el tejido óseo estuviera sustituyendo la piel normal. Dichas lesiones surgen en la región temporal del cráneo, línea media dorsal, cuello, abdomen ventral y región inguinal. La calcinosis representa una calcificación distrófica y los mecanismos actuantes aún no han sido completamente elucidados. Fue demostrado que perros con HAC presentan hiperparatiroidismo secundario, con elevados valores de PTH, que puede estar ejerciendo algún papel como anormalidades en el metabolismo del calcio y el fósforo.

Diagnóstico del hiperadrenocorticismo

Durante la evaluación inicial de un paciente con sospecha de HAC es necesaria una adecuada valoración laboratorial, en la que, a través de hemograma, perfil bioquímico y urianálisis, se busquen evidencias de existir hipercortisolismo, así como una evaluación general en búsqueda de otras patologías responsables por la presentación inicial del paciente. El hemograma de animales con HAC presenta un perfil de estrés, con linfopenia (menor que 1.500/µL) y eosinopenia (menor que 200/µL), asociadas a neutrofilia leve a moderada y monocitosis. La linfopenia es resultado de la linfocitólisis inducida por los corticoides, mientras que la eosinopenia es derivada del secuestro de estas células en la médula ósea. El aumento de los neutrófilos y monocitos en la circulación es derivado de la reducida marginalización y diapédesis de estas células por efectos de los corticoides. En el eritrograma eventualmente se puede observar tanto policitemia como anemia, aunque no se aprecian alteraciones en las células rojas. El recuento de plaquetas puede ser alto (superior a 400.000/µL).

En el perfil bioquímico la principal alteración es la mayor actividad sérica de la fosfatasa alcalina, observada en más del 90 % de los casos. Perros con HAC presentan una isoforma de la FA inducida por corticoides endógenos y exógenos, que puede llegar a aumentar más de diez veces su máximo límite fisiológico en perros con HAC. A pesar de esto, una actividad normal de FA no descarta el diagnóstico de HAC. Por otra parte, el hígado de pacientes con HAC se encuentra bastante aumentado de volumen debido a la exagerada acumulación de glucógeno hepático secundario a la mayor gluconeogénesis hepática. Esta tumefacción hepatocelular causa también aumento en la actividad de la enzima ALT, aunque moderado (menor que 500 U/L). La tumefacción hepatocelular también lleva a colestasis intrahepática, estimulando un aumento adicional en la actividad de la FA.

La glucosa sérica de los pacientes con HAC está en el rango superior (120 mg/dL), aunque algunos pacientes pueden presentar glucemias mayores, con cerca del 5 % al 20 % de los casos pudiendo desarrollar diabetes mellitus secundaria al agotamiento pancreático por el antagonismo que los glucocorticoides promueven sobre los efectos de la insulina. La hiperlipidemia secundaria al HAC es otro hallazgo bastante común, y los aumentos de colesterol y triglicéridos son atribuidos a los efectos lipolíticos y antiinsulínicos de los glucocorticoides. Perros con HAC presentan hipertrigliceridemia en magnitud superior a la hipercolesterolemia. Los indicadores de función renal, urea y creatinina pueden estar normales o reducidos en función de la diuresis inducida por los corticoides; no obstante, la urea puede estar próxima al límite superior debido a la proteólisis exacerbada, y la creatinina debajo de 0,7 mg/dL debido a la menor masa muscular.

El urianálisis de pacientes con sospecha de HAC es una importante herramienta de evaluación general. La densidad de la orina es inferior a 1,015, siendo muchas veces hipostenúrica (menor que 1,008), si los perros tienen libre acceso a agua; si están privados de esta, la mayoría consigue concentrar la orina, aunque esa capacidad está reducida. En perros con macroadenomas comprimiendo la neurohipófisis una diabetes insípida central puede estar presente. Hasta el 50% de los perros con HAC presentan infecciones ocultas del tracto urinario porque, aparte de la inmunodepresión, la vejiga no es vaciada por completo en cada micción, permaneciendo siempre con un volumen residual. Como los corticoides inhiben la respuesta inflamatoria el examen del sedimento urinario puede no presentar piuria o hematuria, motivo por el cual se indica siempre la realización de urocultivo en estos pacientes. Además, la bacteriuria puede no ser evidente debido a la dilución promovida por la poliuria. Proteinuria asociada es observada en 50% de los perros con HAC, siendo de leve a moderada, y secundaria a hipertensión sistémica promovida por los corticoides; sin embargo, proteínas tubulares de bajo peso molecular han sido identificadas caracterizando lesiones, no solo a nivel glomerular, sino también tubular. La glucosuria solo se hace evidente en pacientes con HAC que desarrollan diabetes mellitus secundaria.

Con relación a mediciones hormonales el HAC provoca interferencia en diferentes pruebas endocrinas y a veces causa confusión en la interpretación de estos parámetros. Cerca del 70% de los casos de HAC presentan valores bajos de T_3 y T_4, como efecto de la inhibición de secreción de TSH por los glucocorticoides. Pese a ello, este estado de hipotiroidismo secundario no debe ser causa de reposición hormonal. Se debe tratar el HAC, y si no hay normalización de las hormonas tiroideas, se puede iniciar un tratamiento para hipotiroidismo. La PTH se encuentra aumentada en más del 80% de los perros con HAC como consecuencia de la mayor excreción urinaria de calcio; además, el aumento de PTH puede tener relación con las calcificaciones distróficas observadas en el HAC canino. La insulina sérica de pacientes con HAC está de normal a aumentada, lo cual evidencia la resistencia periférica a la hormona, mientras que la hormona del crecimiento se halla reducida en estos pacientes debido a la mayor secreción de somatostatina por el hipotálamo frente al hipercortisolismo.

Se recomienda la realización de radiografías torácicas y abdominales en perros con HAC, a pesar de que rara vez pueden conseguirse informaciones diagnósticas interesantes; sin embargo, el aumento del volumen abdominal se hace evidente en proyecciones laterolaterales y ventrodorsales. Muchas veces la alta deposición de grasa intraabdominal hace que exista buen contraste para identificar las estructuras. La identificación de adrenales calcificadas puede indicar la presencia de tumores adrenales, ya que cerca del 50% de ellos, sean adenomas o adenocarcinomas, suelen calcificarse. La calcinosis cutánea también puede ser detectada en radiografías. La vejiga extremadamente distendida puede ser fácilmente visualizada al examen radiográfico, algunas veces con cálculos. La osteopenia promovida por los corticoides puede quedar evidente cuando se evalúa la densidad de los cuerpos vertebrales en comparación con los procesos vertebrales. Radiografías torácicas pueden constatar metástasis de tumores adrenales, así como mostrar evidencias de tromboembolismo pulmonar, una complicación rara asociada al HAC canino, potencialmente fatal.

La ecografía abdominal es uno de los exámenes complementarios que ofrece más informaciones sobre el paciente. Además de ofrecer indicios suficientes para determinar el origen del HAC (hipofisario o adrenal), la evaluación ecográfica de la cavidad abdominal permite evaluar todos los órganos y de esta forma hacer un abordaje más sistémico del paciente. Ecográficamente el hígado de los pacientes con HAC aparece aumentado de volumen, con parénquima homogéneo e hiperecogénico. La imagen de los riñones evidencia signos de calcificación de la pelvis renal, y la imagen ecográfica de la vejiga puede presentar signos de infección urinaria o cálculos. La pielonefritis es otra consecuencia del HAC que puede ser sospechada en una ecografía. Las glándulas adrenales son de difícil visualización en la ecografía y su evaluación es una prueba de competencia para el ecografista. La glándula adrenal derecha es más difícil de ser localizada, ya que está más craneal y entre el riñón derecho, la vena cava caudal y el polo caudal del hígado. La glándula adrenal izquierda tiene su localización más variable. Ecográficamente las glándulas adrenales aparecen achatadas, bilobuladas, homogéneas e hipoecoicas comparadas con los tejidos circunyacentes. Algunos trabajos evaluaron las dimensiones de las adrenales en perros saludables y con HPD, pero no fueron

establecidos valores de referencia considerados como normales para diferentes razas y portes de perros. A pesar de ello, adrenales con más de 0,75 cm de espesor, especialmente la izquierda, presenta elevada especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de HAC pituitario dependiente. Además, adrenales con más de 0,6 cm de espesor en perros con menos de 10 kg de peso pueden ser consideradas hiperplásicas. No obstante, este hallazgo por sí solo no es suficiente para un diagnóstico definitivo del trastorno. La presentación de HPD está asociada a un espesamiento de ambas glándulas adrenales de forma simétrica. En los casos de tumores adrenales se observa una de las glándulas con dimensiones aumentadas, y pérdida de la arquitectura normal y de sus características ecográficas. Los tumores se presentan heterogéneos y más ecogénicos. Los adenocarcinomas pueden aparecer quísticos en la ecografía. La formación de sombra acústica puede indicar la calcificación de un adenoma o un adenocarcinoma. De igual forma, la superficie lisa y regular o rugosa e irregular podría dar pistas sobre el tipo de tumor. En los casos de tumores adrenocorticales funcionales se observa atrofia de la glándula contralateral, a veces no observada en las ecografías rutinarias. Ante la presencia de un tumor adrenal, órganos como hígado, bazo y riñones deben ser evaluados para buscar metástasis.

Pruebas endocrinas en el hiperadrenocorticismo

En el diagnóstico del HAC canino se puede emplear una variedad de pruebas hormonales con el objetivo, no solo de determinar la causa del trastorno, sino también su origen: hipofisario (HPD) o adrenal (HAD). La diferenciación de origen del problema es importante, ya que puede determinar cambios en el protocolo terapéutico, así como influenciar en el pronóstico. La medición aislada de cortisol basal no tiene ningún valor diagnóstico por diferentes razones: (a) los perros no presentan un ritmo circadiano bien definido de secreción de cortisol como el observado en humanos, y así, la evaluación del cortisol basal, independiente de la hora del día, no sirve como indicador de la función glandular; (b) no hay en la mayor parte del día un franco hipercortisolismo, ya que perros con HAC independiente del origen pasan prácticamente todo el día con la concentración de cortisol dentro del rango de referencia (5-60 ng/mL); (c) lo que ocurre en el HAC es que hay mayor frecuencia de pulsos de secreción, en asociación con una mayor amplitud de estos picos. A pesar de esto, la concentración basal puede permanecer dentro del rango de referencia en el HAC, así como perros saludables pueden presentar valores elevados de cortisol basal (mayor que 60 ng/mL) si están estresados o nerviosos.

La prueba de estimulación con ACTH parte del supuesto de que luego de la aplicación de la hormona adrenocorticotrófica hay un aumento considerable en la secreción de cortisol por las adrenales. Tumores adrenales o hiperplasia bilateral adrenal secundaria a tumor hipofisario responden exageradamente a la estimulación por ACTH. Esta prueba es bastante práctica y una excelente herramienta diagnóstica, siendo menos afectada por enfermedades no adrenales o por el estado de estrés del paciente, aunque es menos sensible para el diagnóstico de tumores adrenales, pues estos pueden dejar de expresar receptores para ACTH durante la diferenciación tumoral. En razón de esto, resultados normales pueden ser encontrados en el 30% al 60% de los casos de HAD, mientras que solo cerca del 5% al 15% de los casos de HPD presentarán resultados normales. El protocolo más utilizado envuelve la recogida de muestra de sangre para determinación de cortisol basal, seguida de la aplicación de 5 µg/kg de ACTH sintético (cosintropina 0,25 mg) por vía intravenosa, recogiendo nueva muestra para determinación de cortisol una hora después de la aplicación de ACTH. Perros saludables presentan valores de cortisol pos-ACTH en el rango de 60 a 170 ng/mL. Valores mayores de 220 ng/mL son consistentes con diagnóstico de HAC (**Figura 7.13**). Una limitación de esta prueba, además del costo, es que no permite la diferenciación entre HPD y HAD. A pesar de esto, es el único test que permite la comprobación de un HAC iatrogénico. En este último no hay aumento de cortisol luego de la aplicación de ACTH debido a la atrofia del córtex adrenal promovido por el uso crónico de corticoides exógenos.

La prueba de supresión por baja dosis de dexametasona (TSBDD) tiene como base fisiológica que la administración de dexametasona en un perro normal provoca supresión en la producción de cortisol de hasta 48 horas debido al *feedback* negativo promovido en la hipófisis y el hipotálamo. La dexametasona es el esteroide de elección para esta prueba ya que no tiene reactividad cruzada con el cortisol en el inmunoensayo. De esta forma, esta prueba evalúa

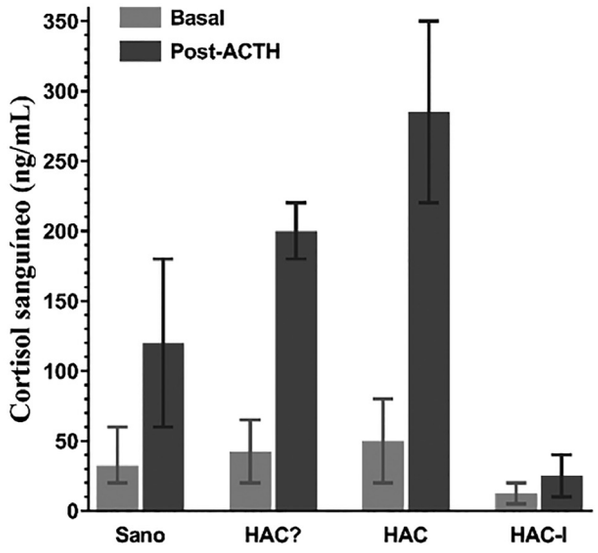


Figura 7.13 Prueba de estimulación con ACTH

Concentraciones sanguíneas ilustrativas de cortisol antes (basal) y después de la administración de ACTH en perros sanos, sospechosos de presentar hiperadrenocorticismo (HAC?), con hiperadrenocorticismo (HAC) y con hiperadrenocorticismo iatrogénico (HAC-I). Animales con hipoadrenocorticismo presentan comportamiento similar al HAC-I. Además de los valores medios, se indican los intervalos mínimos y máximos.

en realidad la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. La premisa básica del HAC es la disfunción de este eje de control, tanto en HPD como en HAD, y en ambas formas del trastorno la administración de dexametasona no irá a promover la supresión del cortisol plasmático. Este test es un poco más complejo y largo en comparación con el de estimulación con ACTH, pero es de elección para el diagnóstico de HAC, además de presentar una sensibilidad mayor del 95%.

El protocolo de realización del test incluye la recogida de una muestra de sangre para determinar cortisol basal sérico, antes de administrarse una dosis de 0,01 a 0,015 mg/kg de fosfato sódico de dexametasona por vía intravenosa. Después de esta aplicación se hacen otras dos recogidas de sangre para determinación de cortisol: una, cuatro horas después de aplicarse dexametasona, y otra, ocho horas después. La base de la interpretación es que perros con HAC son resistentes al *feedback* negativo en el hipotálamo-hipófisis. Un perro normal presentará valores de cortisol pos-dexametasona menores de 10 ng/mL. Un valor de cortisol pos-dexametasona mayor de 14 ng/mL en un animal no estresado y sin enfermedad grave asociada es consistente con diagnóstico de HAC. La prueba es mucho más sensible que específica, y alguna proporción de falsos positivos serán observados principalmente frente a estrés u otros cuadros patológicos como hepatopatías o eventual uso crónico de fenobarbital. De esta forma lo que confirma el diagnóstico no es solo el valor de cortisol pos-dexametasona, sino el conjunto de signos clínicos y las alteraciones laboratoriales y ecográficas. Una de las limitaciones del TSBDD es que no permite el diagnóstico de perros con HAC iatrogénico; sin embargo, si el TSBDD es aplicado a un perro con HAC iatrogénico se espera un cortisol basal bajo, seguido de los mismos valores en cuatro y ocho horas.

Una ventaja del TSBDD es la de permitir la diferenciación entre HPD y HAD a través de la muestra de sangre cuatro horas después de administrarse dexametasona. Incluso frente al HAC la dexametasona consigue promover un discreto *feedback* negativo sobre la hipófisis, aunque este efecto es muy rápido porque el sistema del citocromo P450 hepático está adaptado a la metabolización de corticoides, eliminando rápidamente de circulación la dexametasona. Así, en los casos de HPD, cuatro horas después de aplicarse dexametasona es posible observar inhibición de la secreción de cortisol, interpretándose como inhibición un valor de cortisol menor que 14 ng/mL o simplemente un valor de cortisol cuatro horas después de aplicar la dexametasona menor a 50% de la concentración basal de cortisol. En los casos de HAD el tumor no está sujeto a control hipofisario, y no se observa supresión en el cortisol sérico a las cuatro ni a las ocho horas de haberse aplicado dexametasona (**Figura 7.14**).

Aunque el TSBDD es capaz de diferenciar entre origen hipofisario o adrenal para el problema, no siempre este test deja clara esa cuestión, aunque en cerca de 30% de los perros con HPD puede no haber supresión, pero en 100% de los perros con HAD no hay supresión del cortisol durante el test. En estos casos, tres opciones están disponibles para determinar el origen del problema.

La primera es el test de supresión por alta dosis de dexametasona (TSADD). Este es similar al TSBDD, pero la dosis de dexametasona es de 0,1 mg/kg, siendo que algunos autores recomiendan el uso de 1 mg/kg. El principio es que una dosis mayor de corticoide exógeno podrá demostrar algún efecto inhibitorio sobre la secreción de ACTH en los perros con HPD y

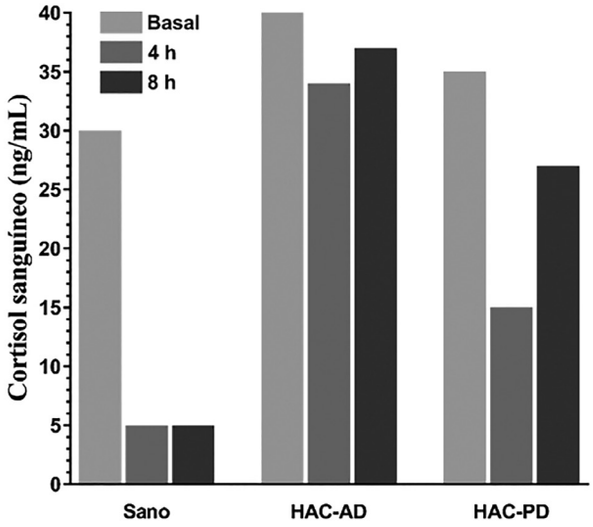


Figura 7.14 Prueba de supresión con baja dosis de dexametasona

Concentraciones sanguíneas ilustrativas de cortisol antes (basal) y después de cuatro y ocho horas de administrarse dexametasona en perros sanos, con hiperadrenocorticismo adreno dependiente (HAC-AD) y con hiperadrenocorticismo pituitario dependiente (HAC-PD).

consecuentemente habrá reducción del cortisol sérico cuatro horas después de administrar la droga. Perros con HAD ya tienen suprimida la concentración de ACTH y la administración de altas dosis de dexametasona no provocará ninguna supresión apreciable de cortisol endógeno.

Otra posibilidad para diferenciar HAD de HPD es la determinación de ACTH endógeno, ya que perros con HPD presentarán concentraciones excesivas de ACTH (mayores que 45 pg/mL) secundarias a la actividad del adenoma hipofisario, mientras que perros con HAD presentarán valores de ACTH muy bajos (menor que 10 pg/mL), a veces indetectables, debido al *feedback* negativo sobre la hipófisis promovida por el cortisol del tumor adrenocortical. La recogida de sangre debe ser con EDTA en tubos preenfriados, la sangre centrifugada inmediatamente y el plasma congelado en tubos plásticos, pues la ACTH se adhiere al vidrio. Todo este procesamiento debe ser hecho en hielo para evitar la degradación de ACTH. El envío al laboratorio ha de hacerse con la muestra congelada.

Otra posibilidad más práctica de diferenciación entre HPD y HAD son los exámenes de imágenes (ecografía, resonancia, tomografía). La visualización de adrenales con parénquima y características ecográficas preservadas y con aumento bilateral es compatible con HPD, y la observación de masas adrenales es extremadamente sugestiva de HAD.

La excreción urinaria de cortisol es proporcional a la concentración plasmática de cortisol. La relación cortisol:creatinina urinaria (C/Cr) es un test bastante sensible, ya que animales con HAC presentan C/Cr elevadas (mayor que 10 hasta 1.000), pero es poco específico, pues cualquier factor estresante y una variedad de enfermedades no adrenales pueden provocar resultados semejantes. A pesar de ello, este test tiene buen valor predictivo negativo en caso de ser baja la relación C/Cr (menor que 10), siendo poco probable la existencia de HAC en esos casos. La recogida de la orina debe ser hecha en casa por el propietario para evitar estrés del ambiente hospitalario. La determinación puede realizarse en una muestra de orina, pero el test tiene más validez si se hace en una mezcla de orinas recogidas en dos mañanas consecutivas y mantenidas en refrigeración hasta su análisis. Para una recogida de orina la primera micción de la mañana es la más adecuada por reflejar la producción de cortisol durante un período mayor (noche), cuando es presumible que el perro no haya orinado. Además, se puede agregar un TSADD a la evaluación de la C/Cr en perros con valores elevados. Se administra dexametasona (0,1 mg/kg por vía oral cada ocho horas durante dos días), y se reevalúa la C/Cr urinaria en los días dos y tres del test. La ausencia de supresión de la C/Cr confirma el diagnóstico de HAC mas no esclarece el origen, mientras que la supresión del cortisol urinario descarta el hipercortisolismo.

Tratamiento del hiperadrenocorticismo

El tratamiento del HAC tiene por objetivo controlar el hipercortisolismo y restablecer el equilibrio metabólico del paciente. Son metas del tratamiento la reversión de los signos clínicos, así como devolver la calidad de vida al paciente. Para alcanzar este objetivo diversas estrategias están disponibles. El tratamiento médico es preferible en los casos de HPD, así como en los de HAD. Por otro lado, los tratamientos quirúrgicos son más aplicados en los casos de HAD, si bien se utilizan también en los de HPD. Además de los tratamientos discutidos a seguir, la irradiación de la hipófisis aparece como una opción terapéutica en perros con HPD y signos neurológicos asociados a macroadenomas.

Una serie de medicamentos está disponible para el tratamiento médico del HAC canino, siendo el mitotano (Lisodren) y el trilostano (Vetoryl) los más efectivos; sin embargo, en el Reino Unido este fármaco solo se puede emplear en casos de HPD en los cuales el trilostano (fármaco considerado la mejor opción para terapia médica en Estados Unidos y Europa) no puede ser usado. Una de las formas creadas a partir del insecticida DDT fue el o,p´-DDD (mitotano), una sustancia que puede destruir las células adrenales en los perros. Esta droga ha sido usada con éxito en perros con síndrome de Cushing, pero es importante tener en cuenta que esta medicación se trata de un veneno y debe ser usada con cautela. Dicho medicamento presenta un efecto adrenocorticolítico selectivo para las zonas fasciculada y reticular, con tendencia a preservar la zona glomerular. A pesar de ser el más indicado para el tratamiento del HPD, porque el tratamiento considerado de elección para el HAD es quirúrgico, es posible observar un buen grado de éxito terapéutico cuando se aplica el tratamiento con mitotano en pacientes con tumores adrenocorticales funcionales.

El tratamiento con mitotano consiste de dos fases: una de inducción, en la que el paciente recibe la medicación diaria, y una posterior de manutención, cuyo objetivo es mantener el control obtenido en la fase de inducción, con el paciente recibiendo una dosis semanal de la medicación. La fase de inducción puede ser corta (cerca de tres-cuatro días), o durar más de dos semanas, en especial cuando se trata de tumores adrenocorticales. Lo que determina el final de la fase de inducción es la respuesta del paciente a la medicación, y el principal signo es disminución del apetito. Para que este signo sea bien observado es recomendado orientar al propietario respecto de que durante dos días mantenga su animal recibiendo cerca de dos tercios de su alimentación normal, dos veces al día, a fin de que esté hambriento. Esto debe ser mantenido por un corto período y no se recomienda iniciar esta terapia en perros con poco apetito. Luego de ese período se comienza a administrar el mitotano en dosis de 25 mg/kg cada doce horas (media cápsula cada doce horas para un perro de 10 kg) inmediatamente después de la alimentación.

La medicación debe siempre ser administrada después de las comidas por ser mejor absorbida en presencia de grasa en el tracto gastrointestinal. La clave para el tratamiento de estos perros es observar mientras comen y reconocer cuándo es el momento correcto de dejar de suministrar el mitotano. Mientras el apetito sea voraz, la medicación debe continuar; cuando se perciba cualquier reducción del apetito, la medicación debe ser interrumpida. Otros signos para cesar la medicación son una menor ingestión de agua, vómitos, diarrea y debilitamiento; no obstante, la reducción del apetito debe preceder esos otros signos preocupantes. La mayoría de los perros responde a esta terapia en cinco a nueve días (tumor hipofisario) o en una a dos semanas (tumor adrenal). Signos como anorexia, vómitos, postración y diarrea pueden indicar hipoadrenocorticismo iatrogénico, que debe ser evitado.

Animales con tumores adrenales en tratamiento con mitotano eventualmente precisan dosis mayores de la medicación (75 a 100 mg/kg/día) en la fase de inducción para que haya efecto. Cuando se vea que el mitotano está haciendo efecto el perro no necesita más de restricción alimentaria. El mitotano debe ser administrado por el resto de vida del animal, en la fase de manutención. La dosis de manutención inicial es de aproximadamente 50 mg/kg por semana (una cápsula/semana para un perro de 10 kg). Esta dosis podrá ser aumentada o reducida de acuerdo con las pruebas realizadas uno, dos y cuatro meses después de iniciado el tratamiento. La dosis semanal puede ser dividida en dos-tres dosis, y administradas en días de la semana predeterminados, de modo que el intervalo entre las administraciones sea lo más uniforme posible.

Cuando se obtengan signos de control del trastorno deberá realizarse un test de estimulación con ACTH para determinar la reserva funcional de la glándula adrenal. Lo ideal es que el cortisol post-ACTH quede entre 10 y 50 ng/mL, y no entre 60 y 170 ng/mL, que es el rango de respuesta de un perro normal. Valores mayores pueden indicar la necesidad de retomar la fase de inducción, pero los signos clínicos del paciente son la mejor indicación. Una nueva inducción dura pocos días. Valores muy bajos (menores que 10 ng/mL) indican la necesidad de suspender el mitotano por algunas semanas, hasta que la glándula se recupere. Un nuevo test después de algunas semanas puede determinar la continuidad del tratamiento. Cerca de seis a ocho semanas después de iniciada la fase de manutención es recomendable realizar una reevaluación del paciente. En esta revisión debe evidenciarse mejora clínica; sin embargo, la dosis de manutención para algunos pacientes podría volverse ineficaz a largo plazo y una nueva fase de inducción ser necesaria. Por otra parte, a largo plazo, la dosis

de manutención puede ser mucha para determinado paciente, y signos de hipoadrenocorticismo podrían surgir en semanas/meses. Cerca del 5% al 20% de los perros con HAC tratados con mitotano acaban desarrollando hipoadrenocorticismo primario durante la fase de manutención, y excepto por la realización periódica de pruebas de estimulación con ACTH no hay cómo prever que los animales irán a desarrollar esta alteración.

En algunos perros con HPD asociado a macroadenomas el uso de lisodren y la consecuente reducción en la producción de cortisol puede provocar aumento de tamaño del tumor hipofisario por la reducción del *feedback* negativo que el cortisol promovía. Estos animales pueden presentar signos neurológicos como estupor, depresión, desorientación, pérdida de comportamientos aprendidos, anorexia, caminar sin rumbo, presionar la cabeza contra superficies fijas (dolor), andar en círculos, inclinación de cabeza, ataxia, ceguera, anisocoria y convulsiones. En estos casos se debe mantener el uso del mitotano, a menos que el animal esté con vómitos, anoréxico o deprimido. Hay que tratar con prednisona o prednisolona en dosis de 2 mg/kg/día o dexametasona 0,1 mg/kg/día e iniciar una reducción gradual de estos corticoides hasta que se resuelvan los signos neurológicos. A veces el cerebro se adapta al crecimiento del tumor. En el caso de que no haya una mejora, otras alternativas habrán de ser evaluadas, como radioterapia o hipofisectomía. El período de vida con el tratamiento de mitotano es cerca de treinta meses.

El trilostano (Vetoryl) ha sido considerado ideal en el tratamiento del HPD canino. Esta sustancia es un esteroide sintético sin ninguna actividad hormonal, aunque actúa como un inhibidor competitivo y reversible de la enzima 3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, bloqueando la síntesis de glucocorticoides, mineralocorticoides y esteroides. La seguridad terapéutica promovida por el trilostano es única en el sentido de inhibir competitivamente la síntesis de cortisol; o sea que, en caso de sobredosis, basta interrumpir la administración para que el paciente vuelva a producir corticoides endógenos. El trilostano está contraindicado para pacientes con insuficiencia hepática, renal, gestantes, lactantes, o en fase de reproducción con intención de gestación.

La dosis de trilostano actualmente preconizada es de 0,5 a 1 mg/kg cada doce horas, o 2 mg/kg cada veinticuatro horas. El monitoreo del tratamiento es diferente, a pesar de inspirar cuidados de la misma forma. Las revaluaciones son necesarias a los diez días, a las cuatro semanas y cada tres meses luego de iniciado el tratamiento. Un test de estimulación con ACTH cerca de dos-cuatro horas después de la administración de trilostano deberá presentar unos niveles de cortisol de 10-50 ng/mL, ya que el efecto de la medicación tiene su pico de acción cerca de dos horas después de la administración y su efecto dura menos de dieciocho horas. Algunos animales precisarán tomar la medicación tres veces al día para controlar los signos clínicos. Ajustes de dosis pueden ser hechos con base en las pruebas de estimulación con ACTH, siendo recomendada la realización del primer test a los catorce días de iniciado el tratamiento solamente para evaluación de mantenimiento de la dosis empleada.

De la misma forma que con mitotano, el uso crónico de la droga puede llevar a hipoadrenocorticismo primario, aunque la mayoría de los casos van a mejorar con la retirada del trilostano. La supresión crónica de la secreción del cortisol promueve mayor secreción de ACTH por la hipófisis y la consecuencia directa es el crecimiento de las adrenales, algo que está asociado también a frecuente falta de control promovido por el trilostano. No obstante, podrá haber necrosis de córtex adrenal secundario a esa mayor secreción de ACTH ya que la irrigación de la glándula parece no acompañar el crecimiento del parénquima. En estos casos será necesaria una terapia más agresiva para el tratamiento del hipoadrenocorticismo y control del desequilibrio hidroelectrolítico. En estas situaciones la remisión de los signos clínicos de HAC puede durar mucho tiempo, pero eventualmente irán a recidivar en muchos casos. Otro problema común relacionado con el empleo de trilostano es que hipercalemia suele ser un hallazgo frecuente, con baja relación Na:K; sin embargo, esta alteración no tiene relación con eventual supresión de la aldosterona por la droga. La expectativa de vida de perros con HAC tratados con trilostano es similar a la del uso de mitotano. El mecanismo de acción del trilostano provocando aumento expresivo de la secreción de ACTH ya fue anotado como factor negativo en su uso en perros con tumores adrenales que no se tratan con adrenalectomía. Mientras tanto, un estudio demostró que en perros con HAD en los que se utiliza apenas terapia médica (trilostano o mitotano) no hubo diferencia significativa en la sobrevida y que el tratamiento médico con trilostano a largo plazo es una alternativa terapéutica en pacientes con HAD.

La seleginina (Anipril) es un inhibidor de la enzima monoamina-oxidasa (MAO) y puede inhibir la secreción de ACTH por aumentar el tono dopaminérgico en el eje hipotálamo-hipofisario. Se sabe que en la zona intermedia de la hipófisis la secreción de ACTH está básicamente en control dopaminérgico, y una menor secreción de dopamina aumenta la secreción de ACTH, o sea, la dopamina actúa como inhibidor de la secreción de ACTH en un sistema semejante al control de la secreción de prolactina en la adenohipófisis; sin embargo, los corticotrofos adenohipofisarios, que son la mayoría (por lo menos 80 % de los corticotrofos hipofisarios) responden mayoritariamente a la CRH. La dosis inicial es de 1 mg/kg/día, y en casos donde no ocurra mejora de los signos clínicos se aumenta la dosis a 2 mg/kg/día. En caso de que no haya mejora, no es recomendado mantener el tratamiento. El uso de seleginina está contraindicado para el tratamiento de perros con HPD portadores de diabetes, pancreatitis, insuficiencia cardíaca, renal u otra enfermedad severa. No debe ser administrada en conjunto con otros inhibidores de la MAO, opioides o antidepresivos tricíclicos. La seleginina no tiene ningún efecto adverso severo. El control es básicamente clínico, ya que pruebas de estimulación con ACTH o TSBDD fallan en mostrar reducción significativa frente al uso de esta droga.

El cetoconazol es un agente imidazólico antifúngico con propiedades inhibitorias sobre la síntesis de glucocorticoides y se presenta como una opción terapéutica para el tratamiento del HAC de forma general, incluso en equinos y humanos. La dosis inicial es de 5 mg/kg dos veces al día durante una semana para probar la tolerancia a la droga. Después se debe aumentar la dosis a 10 mg/kg dos veces al día, por catorce días. Un test de estimulación con ACTH determinará la eficacia del tratamiento, siguiendo los mismos criterios empleados en el tratamiento con mitotano. Si el cortisol pos-ACTH permanece mayor de 50 ng/mL la dosis debe ser aumentada a 15-20 mg/kg dos veces al día. La medicación debe ser aplicada de por vida, y mientras mayor sea la dosis mayor la probabilidad de signos adversos como anorexia, vómitos, diarrea, ictericia e insuficiencia hepática. Cerca del 30 % de los animales no muestran mejora clínica en los signos de HAC.

Muchas otras opciones terapéuticas pueden ser empleadas para el tratamiento médico de HAC, tales como ácido retinoico, cabergolina, pasireotida, entre otras, pero la escogencia del fármaco a emplear debe tomar en consideración disponibilidad local, costos, legislación local, experiencia del clínico y opción del dueño.

Perros con HAD tienen los mejores pronósticos cuando el tumor ha sido quirúrgicamente extirpado por completo, siendo este abordaje considerado ideal; no obstante, estos pacientes no siempre son buenos candidatos a la cirugía, ya que en la mayoría de los casos son obesos, hemodinámicamente perjudicados, con dificultades de cicatrización y viejos. La adrenalectomía es una cirugía bastante delicada debido a la localización de las glándulas adrenales y su íntimo contacto con los grandes vasos abdominales (aorta y vena cava), con los vasos renales y la arteria frénico-abdominal. A esto se suma que el espacio retroperitoneal de estos pacientes, donde se localizan las glándulas adrenales, está repleto de grasa, lo cual dificulta el abordaje. Buena parte de estos pacientes se encuentran hipertensos, y cualquier hemorragia en el período transoperatorio puede ser catastrófica. Por estas razones, perros que van ser sometidos a cirugía deben ser previamente preparados con trilostano hasta que los signos clínicos se hallen compensados y el paciente esté más seguro para la anestesia. Cuando la prueba de estímulo por ACTH demuestre cortisol en el intervalo deseado (10-50 ng/mL), se suspende el uso de trilostano 24-48 horas antes de la cirugía.

La suplementación de glucocorticoides y mineralocorticoides es obligatoria en el trans- y posoperatorio, ya que el córtex contralateral estará atrófico secundario al *feedback* negativo promovido por el tumor, no respondiendo de forma adecuada al estrés. A pesar de que la inhibición crónica de la secreción de ACTH no cesa la producción de aldosterona, es necesario suplementar inicialmente con mineralocorticoides porque la ACTH es necesaria para mantener una adecuada función de la zona glomerular y el córtex contralateral podrá evidenciar insuficiencia mineralocorticoide, que es solo pasajera. Luego de retirar el tumor adrenal el paciente se vuelve hipoadrenocorticoideo y la no corrección de este problema llevará a la muerte. Con el tiempo, tanto glucocorticoides como mineralocorticoides van siendo retirados y el animal pasa a vivir sin medicación.

Durante el procedimiento operatorio el paciente puede ser mantenido con solución Ringer lactato. Una

vez el cirujano visualiza la adrenal, se puede iniciar la infusión de dexametasona en dosis de 0,05 a 0,1 mg/kg dentro del fluido que esté siendo administrado IV. Esta dosis debe ser durante seis horas y repetida dos a tres veces en este mismo día, por vía subcutánea, hasta que el perro pueda recibir de forma segura medicación por vía oral (sin vómitos y alimentándose por su cuenta). La medicación por vía parenteral puede ser interrumpida 24 a 72 horas después, cuando los animales estén comiendo y bebiendo normalmente. Cuando se inicia la medicación oral se utiliza prednisona en dosis de 0,25 a 1 mg/kg. La prueba de estimulación por ACTH es indicada en el posquirúrgico para evaluar la reserva funcional de la glándula contralateral. El resultado de este test es importante para definir el tiempo y la velocidad de reducción de los glucocorticoides, de forma que cada reducción en la dosis no cause pérdida de apetito, vómitos, o postración.

Con relación a la reposición de mineralocorticoides, se puede usar uno de los protocolos descritos en el tratamiento de hipoadrenocorticismo, pero evaluando los electrolitos de los pacientes cada siete días, hasta por lo menos un mes. Pruebas de estimulación con ACTH deben ser hechas periódicamente hasta que se observe una concentración de cortisol dentro del rango de referencia (60-170 ng/mL), siendo el primer test realizado en el posoperatorio. El momento ideal de suspender las medicaciones es cuando haya un resultado de estimulación normal, semanas a meses después de la adrenalectomía.

La adrenalectomía bilateral puede ser una alternativa en perros de gran porte, como una herramienta para reducir el costo del tratamiento médico, así como en perros que no respondan bien al mitotano, o en perros con tumores adrenales bilaterales; sin embargo, esta técnica no se recomienda, ya que se puede dar buena calidad de vida a un animal con tratamiento médico, relativamente más seguro. Además, estos perros necesitarán tratamiento para hipoadrenocorticismo por el resto de sus vidas. Muchos veterinarios endocrinólogos cuestionan la aplicabilidad de la adrenalectomía como tratamiento seguro para el HAC canino debido al elevado grado de complicaciones. Diversos trabajos evidencian que el tratamiento médico (mitotano, trilostano) es eficaz en controlar pacientes con tumores adrenales, con expectativas de vida semejantes a los perros que sobreviven a la cirugía. El promedio de supervivencia de los perros operados es menor a dos años y algunos viven más de cuatro años, mientras que la supervivencia de los perros tratados con mitotano es cerca de treinta meses y algunos incluso superan ocho años más. No se conoce la expectativa de vida de perros con HAC no tratados después del diagnóstico. En el caso de tumor hipofisario, la hipofisectomía no es común realizarla en perros. Además, el empleo de la radioterapia es una opción importante en casos de macroadenomas de hipófisis.

Hiperaldosteronismo

El hiperaldosteronismo (síndrome de Conn) es la producción excesiva de mineralocorticoides y puede ser primario o secundario. El hiperaldosteronismo primario se refiere a una condición clínica derivada de la producción excesiva de aldosterona, generalmente debido a un tumor adrenocortical o a una hiperplasia adrenal bilateral. Como consecuencia del exceso de aldosterona en circulación el paciente tiende a presentar retención de sodio y mayor excreción de potasio e hidrógeno. El resultado final es un cuadro hipertensivo asociado a alcalosis metabólica. Esta condición clínica es más común en felinos que en caninos. El hiperaldosteronismo secundario se refiere a cualquier situación clínica que active el sistema renina-angiotensina-aldosterona (insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, hipovolemia), aunque en estas situaciones el hiperaldosteronismo se trata de una respuesta secundaria fisiológica.

Signos clínicos del hiperaldosteronismo

La presentación inicial puede ser derivada de problemas relacionados con la fisiopatología del proceso, como por ejemplo la hipertensión. La hipertensión crónica suele estar asociada a hemorragias retinianas o subretinianas (retinopatía hipertensiva) que pueden llevar a ceguera o a una diversidad de síntomas neurológicos debido a hemorragias cerebrales secundarias a la hipertensión o a edema de neuroglia secundario a la hipertensión y al aumento de la presión intracraneal. Signos clínicos relacionados con hipocalemia son frecuentes, como debilidad, flexión ventral del cuello y mialgia secundaria a miopatías hipocalémicas. Muchos pacientes presentan poliuria y polidipsia por la excreción incrementada de potasio. La evaluación cardiovascular de estos

pacientes evidencia hipertensión en prácticamente el 100 % de los casos y soplo cardíaco que puede ser detectado en la auscultación debido a la inducción de alteraciones cardíacas por la hipertensión y la hipocalemia. La palpación abdominal de algunos gatos acometidos puede evidenciar la presencia de una masa adrenal. La pérdida de peso es un signo común relatado en la historia clínica.

Una evaluación de rutina a pacientes sospechosos de hiperaldosteronismo debe incluir perfil hematológico, bioquímico y urinario, para poder excluir otros problemas asociados. A pesar de que la fisiopatología del trastorno incluye la retención de sodio y mayor excreción de potasio, la detección de hipernatremia es menos frecuente que la de hipocalemia, el principal marcador bioquímico del hiperaldosteronismo. La retención de sodio está asociada a la retención hídrica y, con eso, el sodio retenido se diluye en el plasma. En las rutinas donde la gasometría está disponible una elevación de bicarbonato evidencia alcalosis metabólica secundaria a la mayor excreción de iones H^+ en los riñones, junto con el K^+. Los demás parámetros de bioquímica clínica tienden a ser poco específicos, aunque puede estar presente una azotemia secundaria a trastorno prerrenal, o por hipertensión secundaria a enfermedad renal o a nefropatía hipocalémica. El urianálisis tiende a evidenciar baja densidad urinaria (menor que 1,025), próxima a una isostenuria (1,008-1,012). Los exámenes de imágenes (radiografía y ecografía) pueden ser útiles en la identificación de masas adrenales. El diagnóstico definitivo podrá ser confirmado frente a la determinación sérica de aldosterona, que debe estar aumentada. Se advierte que la muestra de sangre para la medición de esta hormona debe ser realizada antes de cualquier manejo terapéutico, como fluidoterapia o medicaciones que reduzcan la presión arterial (diuréticos, antihipertensivos). Para tratar de diferenciar un hiperaldosteronismo primario de uno secundario es necesaria la medición sérica de renina. El hiperaldosteronismo primario estará asociado a una concentración elevada de aldosterona y baja concentración de renina, mientras que en el hiperaldosteronismo secundario la concentración de renina también estará elevada, así como de la aldosterona.

Tratamiento del hiperaldosteronismo

Antes de cualquier medida drástica es fundamental obtener un control de la hipertensión y la hipocalemia. El tratamiento definitivo y que presenta mejor pronóstico es la resección tumoral. La espironolactona se emplea en el control inicial del trastorno. Sus propiedades antagonistas al receptor de aldosterona hacen que esta medicación presente efecto tanto en la reversión de la hipocalemia como en el control de la presión arterial. Puesto que el sistema de reabsorción de sodio y excreción de potasio es mediado por la actividad de la bomba sodio-potasio en la membrana basolateral de las células de los túbulos renales, la administración de una dieta restringida en sodio, así como la suplementación oral de potasio, pueden auxiliar en el control de la hipocalemia. Eventualmente el uso de la espironolactona no reducirá de forma efectiva la presión arterial sistémica, sobre todo en gatos. En estos casos una dosis 0,625 mg/día de anlodipino para gatos y 0,5 mg/kg/día de maleato de enalapril para perros, pueden ser aplicados con el objetivo de controlar mejor la hipertensión. El pronóstico es favorable cuando se posibilita realizar la adrenalectomía con éxito. Sin embargo, complicaciones de la hipertensión ya establecidas, como la ceguera, por ejemplo, son irreversibles.

7.10 Hormonas de la médula adrenal

La médula adrenal constituye el 10 % de la glándula adrenal. Funcional y anatómicamente es similar a los ganglios simpáticos y es enervada por fibras preganglionares simpáticas, cuya activación produce secreción de catecolaminas en la médula adrenal. Es realmente una extensión del sistema nervioso simpático. Sus células constitutivas son llamadas cromafínicas debido a su afinidad por determinados colorantes histológicos. Las células que producen adrenalina poseen gránulos grandes y poco densos, mientras que los secretores de noradrenalina poseen gránulos pequeños y densos. Estas características celulares permiten distinguir tumores adrenales corticales de tumores medulares mediante citología. Las fibras preganglionares simpáticas liberan acetilcolina, que despolariza las células de la médula adrenal y provoca la liberación de catecolaminas, esto es, las células cromafínicas parecen neuronas simpáticas posganglionares sin fibras.

Biosíntesis de las catecolaminas

Las catecolaminas dopamina, noradrenalina y adrenalina son 3,4-dihidroxi-derivados de la fenile-

tanolamina, sintetizadas en las células cromafínicas de la médula adrenal, así como en algunas células especializadas de corazón, hígado, riñones, gónadas, y neuronas adrenérgicas del sistema simpático posganglionar y del sistema nervioso central. El principal producto es la adrenalina, que constituye cerca de 80 % de las catecolaminas secretadas por la médula adrenal, aunque existen variaciones interespecies (**Figura 7.15**).

La adrenalina es la única catecolamina que no se sintetiza en otro tejido fuera de la médula adrenal. Las demás catecolaminas se sintetizan también en neuronas adrenérgicas y dopaminérgicas.

Los precursores de las catecolaminas son los aminoácidos tirosina (Tyr) o fenilalanina (Phe) (**Figura 7.16**). La Phe se convierte en Tyr por acción de la Phe-hidroxilasa, enzima de amplia distribución en el organismo. La Tyr ingresa a las células cromafínicas, donde es hidroxilada por la Tyr-hidroxilasa, enzima alostérica que controla la biosíntesis de las catecolaminas y tiene como su coenzima la tetrahidropteridina para formar dihidroxi-fenilalanina (DOPA). La Tyr-hidroxilasa es inhibida por las propias catecolaminas. Posteriormente, la DOPA es descarboxilada por una enzima presente en todos los tejidos en el compartimiento citosólico, la DOPA-descarboxilasa, la cual tiene como coenzima el piridoxal-fosfato para formar dopamina, primera catecolamina a ser sintetizada en la vía. Para producir las demás catecolaminas la dopamina debe entrar en los gránulos cromafínicos de secreción, donde la enzima dopamina-β-hidroxilasa cataliza su conversión a noradrenalina (norepinefrina). Esta enzima es una óxido-reductasa que usa ascorbato como donador de electrones, teniendo un átomo de Cu^{+} como sitio activo y fumarato como modulador. Se encuentra en la fracción particulada del gránulo. Finalmente, una enzima soluble presente en el citosol, la feniletanolamina-N-metil-transferasa, cataliza la N-metilación de la noradrenalina para formar adrenalina. La síntesis de esta enzima es estimulada por glucocorticoides que alcanzan la médula adrenal vía sistema portal intraadrenal y pueden concentrarse hasta cien veces más que en la circulación periférica. Por esa razón, la adrenalina no se puede sintetizar en lugares extraadrenales.

La adrenalina sintetizada se puede almacenar en los gránulos de secreción. La estimulación neural resulta en la fusión de las membranas granular y plasmática, liberando catecolaminas por exocitosis, en un proceso dependiente de Ca^{2+} estimulado por agentes colinérgicos y β-adrenérgicos e inhibido por agentes α-adrenérgicos. Las catecolaminas secretadas por la médula adrenal no pueden reingresar como pueden hacerlo en los nervios simpáticos para almacenarse de nuevo. Tienen una vida media muy corta (cerca de dos minutos).

La señal para la síntesis de catecolaminas proviene de la acetilcolina, neurotransmisor que se libera en las fibras preganglionares por estímulos del SNC (frío, hipoglucemia, estrés). La acetilcolina

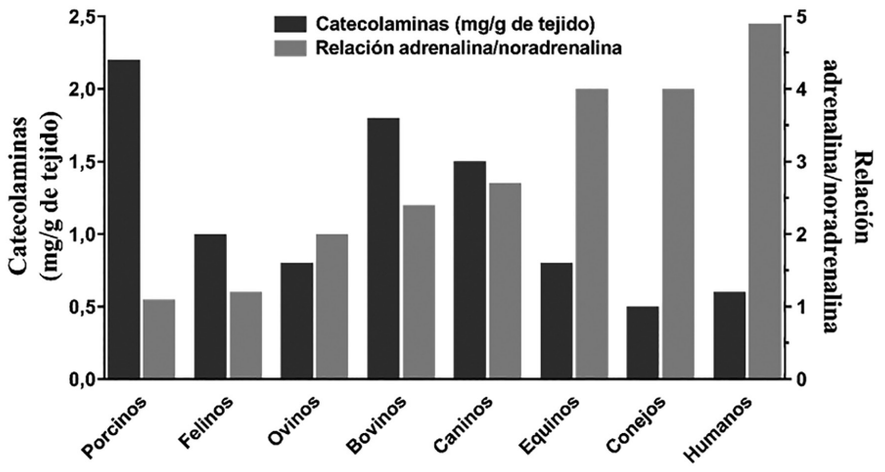


Figura 7.15 Concentración de catecolaminas en la médula adrenal y relación adrenalina/noradrenalina en algunas especies domésticas

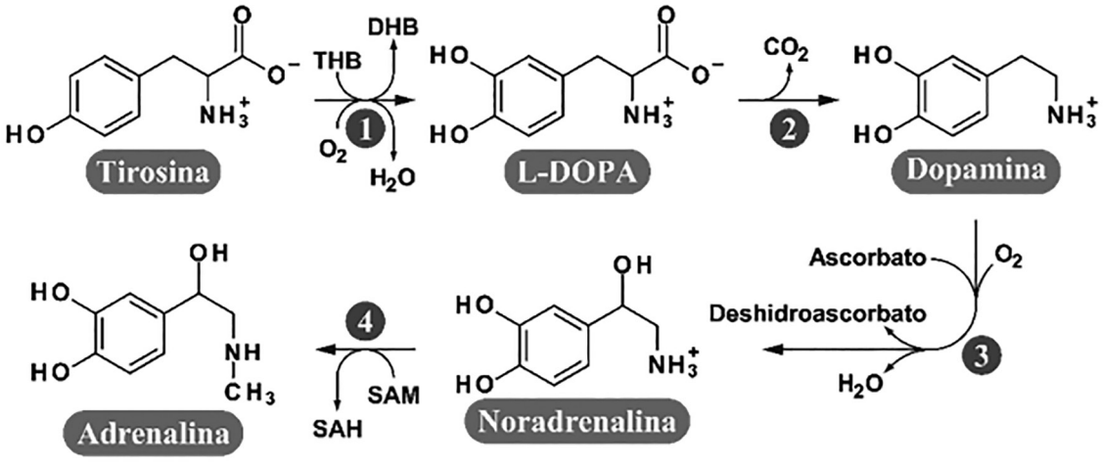


Figura 7.16 Biosíntesis de catecolaminas

Inicialmente la tirosina es hidroxilada con formación de L-DOPA (L-3,4-di-hidroxifenilalanina), usando los átomos de hidrógeno provenientes de la tetrahidrobiopterina (THB), la cual se convierte en dihidrobiopterina (DHB). Luego, la dopamina es generada por la descarboxilación de la L-DOPA, seguida de una nueva hidroxilación por parte de la dopamina para formar noradrenalina (con átomos de hidrógeno suministrados por el ascorbato). Finalmente, la adrenalina es sintetizada por metilación de la noradrenalina, teniendo la S-adenosil-metionina (SAM) como donadora del grupo metilo. En esta reacción la SAM se convierte en S-adenosil-homocisteína (SAH). En la **Figura 7.17** se muestran los detalles de las reacciones en las que participan el THB y el ascorbato. Detalles de la reacción que incluye la SAM se muestran en la **Figura 1.13**. Las enzimas participantes son: [1] tirosina hidroxilasa; [2] L-aminoácido descarboxilasa; [3] dopamina β-hidroxilasa y [4] feniletanolamina N-metiltransferasa.

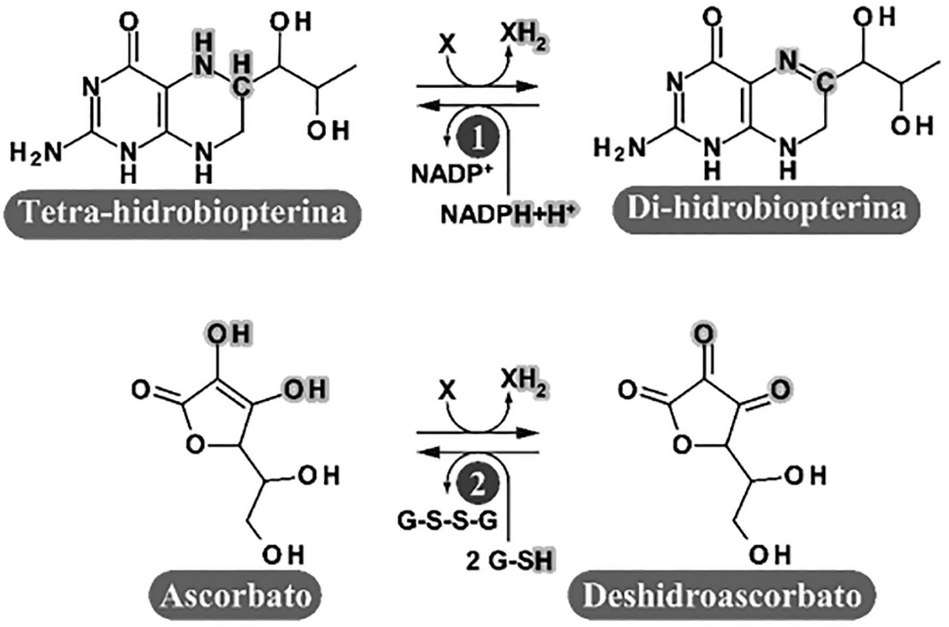


Figura 7.17 Detalles de las reacciones en las que participan tetrahidrobiopterina (THB) y ascorbato como donadores de átomos de hidrógeno

Los átomos de hidrógeno de la tetrahidrobiopterina y del ascorbato que son donados se resaltan en fondo gris. En la reacción se generan sus formas oxidadas, la dihidrobiopterina y el deshidroascorbato, las cuales pueden nuevamente ser reducidas a expensas del $NADPH+H^+$ y del glutatión reducido (G-SH), respectivamente. En las figuras 5.9 y 5.10 se muestran los detalles estructurales y funcionales del glutatión y de la biosíntesis del ascorbato (vitamina C), respectivamente. Las enzimas participantes son: [1] dihidrobiopterina reductasa y [2] deshidroascorbato reductasa.

provoca despolarización de la membrana plasmática de las células cromafínicas, causando flujo de Ca^{2+} al interior de las células. El aumento de calcio intracelular actúa junto con ATP para causar la liberación de catecolaminas de las células cromafínicas por exocitosis. La metabolización de las catecolaminas está a cargo de las enzimas catecol-O-metil-transferasa, que actúa sobre las catecolaminas circulantes, y monoamino oxidasa (MAO), que actúa a nivel intracelular. Las catecolaminas transformadas son hidrosolubles, biológicamente inactivas, y se excretan por la orina.

Acciones de las catecolaminas

A las catecolaminas se le atribuye la respuesta al miedo, la lucha o la fuga. En general, los efectos integrados modifican el metabolismo y la función cardiorrespiratoria adaptando al individuo a situaciones de estrés. Las diferentes y, en ocasiones, contradictorias acciones de las catecolaminas, se explican por la presencia de diversos tipos de receptores en las células. Existen dos tipos de receptores adrenérgicos: α y β. Los receptores α son generalmente mediadores de las acciones estimulatorias de la adrenalina y la noradrenalina sobre el músculo liso, mientras que los receptores β son mediadores de acciones inhibitorias sobre este tipo de músculo; no obstante, en el músculo cardíaco los receptores β son estimulatorios: aumentan la fuerza de contracción y la frecuencia cardíaca. La estimulación de los receptores α_1 y β_1 en el músculo cardíaco aumentan la fuerza de contracción del corazón.

Los receptores α y β se subdividen en α_1 y α_2, β_1 y β_2, en función de las respuestas y afinidades que poseen con determinados agentes agonistas y antagonistas (**Tabla 7.6**).

Los cuatro tipos de receptores se encuentran en diversos tejidos blanco y son intermediarios de diferentes respuestas de acción de la adrenalina. Por ejemplo, los receptores β se encuentran en músculo esquelético, hígado, tejido adiposo, y son intermediarios de los mecanismos reguladores del metabolismo del glucógeno y de los triglicéridos: la acción de la adrenalina causa glucogenólisis (degradación del glucógeno) y lipólisis (hidrólisis de triglicéridos). El número y la afinidad de los receptores por sus respectivos agonistas puede variar mediante *down-regulation* (disminución del número de receptores o de la afinidad, debido a la exposición prolongada al agonista) o bien mediante *up-regulation* (aumento del número de receptores o de la afinidad por disminución en la concentración del agonista).

Los receptores β-adrenérgicos son proteínas integrales de membrana que contienen siete regiones hidrofóbicas de veinte-veintiocho residuos de aminoácidos, lo cual sugiere que atraviesan la membrana siete veces. El sitio de unión a la adrenalina está en la cara externa de la membrana plasmática. La activación de los receptores β por parte de la adrenalina causa activación de la enzima adenilciclasa para aumentar la concentración intracelular de cAMP. Si esta acción ocurre en el hepatocito el cAMP activa

Tabla 7.6 Agonistas y antagonistas de los receptores adrenérgicos y dopaminérgicos

Receptores	Agonistas	Antagonistas
Adrenérgicos		
α_1 y α_2	Adrenalina, noradrenalina	Fentolamina, tolazolina
α_1	Fenilefrina, metoxamina	Fenoxibenzamina, prazosina
α_2	Clonidina, xilazina	Ioimibina, idaxosan
β_1 y β_2	Isoproterenol, adrenalina	Propanolol, nadolol
β_1	Noradenalina, dopamina, dobutamina	Metoprolol, atenolol
β_2	Metaproterenol, albutanol	Butoxamina, ICI 118551
Dopaminérgicos		
D_1 y D_2	Dopamina	Butaclamol
D_1 y D_2	SKF 38393	SCH 23390
D_2	Apomorfina, LY 141865	Haloperidol, domperidona

la proteína-quinasa A, que fosforila la fosforilasa quinasa *b*, activándola en fosforilasa quinasa *a*. Esta enzima, a su vez, fosforila otra enzima: la glucógeno fosforilasa *b*, activándola en glucógeno fosforilasa *a*, que degrada el glucógeno.

La activación de los receptores α-adrenérgicos conduce a un aumento de la concentración de Ca^{2+} citosólico en las células-blanco: los receptores α_1 mediante la liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares, y los receptores a_2 mediante el aumento del flujo de Ca^{2+} extracelular. La acción de los receptores α_2 está asociada, también, a la inhibición de la adenilciclasa en algunas células, como adipocitos, plaquetas y neuronas adrenérgicas, mientras que la estimulación de los receptores β se asocia con la activación de la adenilciclasa.

Los receptores de dopamina se clasifican en función de su acción sobre la adenilciclasa: los receptores dopaminérgicos D_1 activan la adenilciclasa provocando aumento de cAMP en la célula-blanco, mientras que los receptores D_2 inhiben la adenilciclasa y, por tanto, disminuyen los niveles de cAMP en las células donde actúan.

Las catecolaminas adrenérgicas causan vasoconstricción por activar los receptores α_1 y α_2; no obstante, pequeñas cantidades de adrenalina causan vasodilatación en el músculo esquelético y en el hígado mediante receptores β_2. La adrenalina aumenta la frecuencia y el volumen respiratorios a través del relajamiento de los músculos bronquiales mediante receptores β_2. Las catecolaminas pueden inhibir la contracción del músculo liso intestinal por activación de los receptores β_1, o por inhibición de la liberación de acetilcolina en el plexo de Auerbach (ganglios parasimpáticos) por medio de receptores α_2. La noradrenalina causa piloerección al estimular los receptores α del folículo piloso.

La dopamina causa liberación de la hormona paratiroidea mediante la activación de receptores D_1. La activación de receptores D_2 conduce a inhibición de la secreción de las siguientes sustancias: noradrenalina en neuronas adrenérgicas, aldosterona en las células glomerulares del córtex adrenal, prolactina en la neurohipófisis y renina en las células yuxtaglomerulares del riñón.

Sobre el metabolismo las catecolaminas adrenérgicas tienen varios efectos: estimulan la glucogenólisis hepática y muscular para aumentar los niveles de glucosa plasmática a través de β-receptores. También estimulan la lipólisis en el tejido adiposo vía receptores β_1 para aumentar los niveles de ácidos grasos en el plasma; sin embargo, son cetogénicas al estimular la movilización de lípidos. Por otro lado, inhiben la secreción de insulina a través de α-receptores.

Las catecolaminas y la integración de las hormonas del metabolismo

La homeostasis metabólica en los animales está regulada principalmente por seis hormonas; además de las catecolaminas, se incluyen glucagón, insulina, glucocorticoides, somatotropina (GH) y hormonas tiroidianas. Las grasas almacenan cerca de 80 % de la energía del organismo, las proteínas contienen cerca del 20 % de la energía, y el glucógeno y la glucosa suministran 0,5 % de la energía almacenada. Sin embargo, la energía aprovechada por las células es en la forma de glucosa, existiendo mecanismos hormonales que regulan el nivel de glucosa sanguínea para que esté siempre en torno de 4-5 mM, con variaciones dependiendo de la especie. Esos mecanismos incluyen la acción combinada de las hormonas insulina, glucagón y adrenalina, especialmente sobre el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. La insulina favorece el ingreso de glucosa en las células estimulando también su conversión a glucógeno y triglicéridos. El glucagón provoca en los tejidos degradación de glucógeno (glucogenólisis), gluconeogénesis (síntesis de nueva glucosa) y oxidación de ácidos grasos para disminuir el gasto de glucosa por los tejidos y utilizar cuerpos cetónicos, los cuales son producidos en la movilización y posterior oxidación de los ácidos grasos.

La adrenalina prepara los músculos, los pulmones y el corazón con la finalidad de aumentar la actividad física cuando el animal enfrenta situación de estrés. El estímulo viaja vía nerviosa para liberar catecolaminas en la médula adrenal. Fisiológicamente la adrenalina causa aumento de la fuerza de contracción y de la frecuencia cardíaca, aumenta la presión sanguínea y dilata las vías respiratorias, eventos que contribuyen a incrementar la disponibilidad de oxígeno en los tejidos. Metabólicamente, la adrenalina causa:

(a) Aumento de la disponibilidad de glucosa mediante estímulo de la glucogenólisis (activando la enzima glucógeno fosforilasa) y la gluconeogénesis,

y mediante inhibición de la síntesis de glucógeno (inactivando la enzima glucógeno sintetasa).

(b) Aumento de la producción de ATP en el músculo a través del estímulo de la glucólisis muscular.

(c) Aumento de la disponibilidad de ácidos grasos libres, mediante estímulo de la lipasa, que promueve la hidrólisis de triglicéridos en el tejido adiposo. Los efectos de la adrenalina son reforzados por mayor secreción de glucagón y por menor secreción de insulina.

7.11 Trastornos de la médula adrenal

Feocromocitomas

Las células cromafínicas de la médula adrenal pueden sufrir tumores neuroendocrinos, de color café rojizo, denominados feocromocitomas (del griego, 'tumor oscuro'). Estos tumores, poco frecuentes, se presentan en perros, ocasionalmente en caballos, y son muy raros en gatos. Aunque secreten grandes cantidades de catecolaminas, los feocromocitomas son considerados tumores benignos, de difícil diagnóstico al examen clínico normal, generalmente de hallazgo en necropsia. A pesar de ser descritos en diversas especies de mamíferos domésticos y en humanos, es una neoplasia rara, asociada a otros tumores mesenquimales o a otros tumores endocrinos, como los que llevan al desarrollo de HPD, carcinoma de tiroides e hiperplasia de paratiroides. En humanos los feocromocitomas secretan más noradrenalina que adrenalina, pero esta información no es enc ontrada en los tumores adrenomedulares de los perros. Los diversos efectos de la mayor secreción de catecolaminas en la sangre provienen de la interacción y potencial de activación en los diferentes tipos de receptores α y β dispersos por los tejidos.

Signos clínicos del feocromocitoma

El promedio de edad de presentación inicial del feocromocitoma es a los 10 años, pero hay casos publicados que varían de 1 a 15 años. Aparentemente no hay predilección sexual. Cerca del 50% de los feocromocitomas son invasivos localmente y presentan tasas de metástasis (hígado, pulmones, linfonodos, bazo, huesos, SNC) en el orden del 15% al 30%. El diagnóstico de feocromocitoma es desafiador y muchos casos solo son descubiertos en la necropsia o después de examen histopatológico en un tumor adrenal retirado quirúrgicamente. El diagnóstico es importante, porque se pueden evitar las complicaciones limitantes a la vida causadas por los feocromocitomas. Además, la preparación anterior a una cirugía en casos de feocromocitoma es distinta de una adrenalectomía en casos de síndrome de Cushing o del síndrome de Conn.

La mayoría de los signos clínicos observados en perros con feocromocitomas son secundarios a los efectos biológicos de las catecolaminas. Sin embargo, algunos signos pueden ser secundarios a la invasión local de estructuras por el tumor (riñones, vena cava, arteria aorta, canal medular), lo que puede llevar de forma más drástica a trombosis de la vena cava caudal o hemorragia intraabdominal aguda. Los síntomas pueden desde leves y aparentemente ausentes, hasta graves como colapso circulatorio. De igual forma, los signos pueden ser agudos y episódicos, o crónicos y progresivos dependiendo de la naturaleza secretora del tumor (intermitente o continua), la cantidad y tipo de catecolamina secretada, y si hay o no invasión de estructuras.

Los principales signos clínicos observados en pacientes con feocromocitoma son: hipertensión, arritmia cardíaca, pérdida de peso, anorexia, depresión, debilidad, agitación, insomnio, disnea, jadeo, tos, intolerancia al ejercicio, cianosis, epistaxis, convulsiones, paraparesia, ataxia, midriasis, poliuria, polidipsia, distensión abdominal, vómitos y diarrea.

Las quejas comunes aluden a pérdida de peso, anorexia y depresión, así como signos respiratorios. La taquicardia y arritmias son efectos directos de las catecolaminas. Las mucosas pueden estar hiperémicas o incluso pálidas debido a hemorragias y vasoconstricción (30% de los casos). Puede haber distensión abdominal secundaria a ascitis por obstrucción vascular, o como resultado de hemorragias. Algunos animales pueden evidenciar masas abdominales palpables. La evaluación retiniana puede referir signos de retinopatía hipertensiva. A pesar de común, la hipertensión sistémica (presión sistólica mayor que 160 mmHg y presión diastólica mayor que 100 mmHg) no tiene su verdadera incidencia determinada, y puede estar asociada a disturbios concomitantes o a la naturaleza episódica de secreción del tumor. La parálisis de los miembros posteriores puede ser secundaria a tromboembolismo o por problemas neurológicos primarios.

Diagnóstico del feocromocitoma

Los exámenes laboratoriales no dan mucha información útil al diagnóstico; presentan alteraciones inespecíficas como hemograma de estrés asociado a trombocitopenia o trombocitosis, elevada actividad de las enzimas hepáticas, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia. Muchos casos presentan azotemia e hiperfosfatemia, indicando disfunción renal, y proteinuria relacionada con glomerulopatía hipertensiva. Animales con HPD asociado a feocromocitomas pueden tener este factor, lo que llega a confundir, con tendencia a atribuir todos los signos clínicos al hipercortisolismo. Aspirados con aguja fina pueden ser útiles en la identificación de feocromocitomas y en la diferenciación de las masas adrenales de otros orígenes, a pesar del riesgo de aumentar aún más la presión sanguínea por el trauma con la aguja.

El diagnóstico definitivo de un feocromocitoma es difícil si no se miden los metabolitos de catecolaminas en la orina, aunque clínicamente es posible determinar un feocromocitoma frente a una masa adrenal, diferenciando de tumor adrenocortical o aldosteronoma y otras causas potenciales de hipertensión. Los exámenes de imágenes, como ecografía, radiografía, tomografía computadorizada y resonancia magnética son de gran valor para determinar la presencia de estas masas adrenales, así como el grado de invasión de los tejidos adyacentes, y en la búsqueda de metástasis pulmonares, linfáticas o hepáticas.

A pesar de existir métodos para determinar catecolaminas en el plasma, así como sus metabolitos (metanefrina, normetanefrina y ácido vanililmandélico) en la orina, estas mediciones no son aplicadas rutinariamente en la práctica veterinaria, tanto por las dificultades relacionadas con el estrés, como por las dificultades que envuelven la recogida de orina a lo largo de veinticuatro horas. No obstante, la principal limitación es la falta de valores de referencia tanto de las catecolaminas como de sus metabolitos para perros y gatos. Sin embargo, recientemente han sido propuestos marcadores bioquímicos en la orina y la sangre para el diagnóstico del feocromocitoma, y la determinación de la relación normetanefrina:creatinina urinaria se mostró la más sensible y específica en perros.

Tratamiento del feocromocitoma

La adrenalectomía es el único tratamiento definitivo. La cirugía presenta complicaciones por el elevado grado de infiltración de los tumores y la hipertensión que puede causar hemorragias transoperatorias y variaciones de presión desafiadoras para el manejo por el anestesista. A veces es necesaria la nefrectomía adyacente, así como la resección de parte de la vena cava caudal. El manejo previo de la hipertensión puede ser obtenido con el uso de drogas α-antagonistas como la fenoxibenzamina (0,2-1,5 mg/kg, oral, dos veces al día) o prazozina (0,5-2,0 mg/kg, oral, dos a tres veces al día). La administración de β-bloqueantes (propranolol) para control de arritmias no debe realizarse sin el uso adicional de α-antagonistas debido al riesgo de reducción intensa del débito cardíaco.

El pronóstico depende bastante de las características de invasividad, tamaño y comportamiento biológico del tumor, además del éxito trans- y posoperatorio inmediato. Después de la cirugía la vida puede prolongarse entre dieciocho meses y dos años.

7.12 La glándula adrenal y el estrés

Uno de los efectos más notorios en el animal adrenalectomizado es la incapacidad para resistir condiciones adversas, esto es, adaptarse al estrés. En 1936 Selye estudió el fenómeno de la adaptación en los animales y describió el síndrome general de adaptación, que comprende tres fases:

(a) La reacción de alarma, en la cual el organismo reacciona fisiológica y metabólicamente ante una situación inesperada de intranquilidad para mantener el equilibrio (homeostasis).

(b) El estado de adaptación, en el que el organismo mantiene su equilibrio metabólico ante la nueva situación de estrés.

(c) El estado exhaustivo, que ocurre si el animal no consigue mantener el equilibrio y no se adapta a la nueva situación, caso en que puede hasta ocurrir la muerte.

Factores de estrés como reclusión, lactación, ejercicio, cirugía, anestesia, calor, dolor, anticipación de la alimentación, destete, transporte, subnutrición, etc., desencadenan la respuesta del organismo, activando el sistema pituitario-adrenocortical. En la primera respuesta de comportamiento el animal evita el estímulo estresante. Así, un predador puede ser evitado escapando, o un ambiente caliente ser eludido buscando sombra o

lugares más frescos. No obstante, los animales pueden encontrar situaciones que limiten la respuesta, como, por ejemplo, los mantenidos en confinamiento. La respuesta del sistema nervioso autónomo es la segunda respuesta de defensa del animal ante una situación de estrés. Cannon, en 1929, propuso esa respuesta como lucha o fuga (*fight or flight*). El sistema nervioso autónomo es activado por centros de la médula espinal, tronco cerebral e hipotálamo. Durante la situación de estrés la estimulación de los nervios simpáticos de la médula adrenal secreta grandes cantidades de adrenalina y noradrenalina en la circulación sanguínea. Esas hormonas tienen los mismos efectos que los causados por la estimulación simpática directa, aunque de forma más prolongada, uno a dos minutos después de terminar la estimulación. Así, los órganos son estimulados por dos vías simultáneas: directamente por los nervios simpáticos e indirectamente por las catecolaminas. Los efectos de la activación del sistema nervioso autónomo promueven cambios en frecuencia cardiaca, presión sanguínea, actividad gastrointestinal, excreción de orina, secreción pancreática, sudoresis, glucemia y lipomovilización. Estas respuestas autonómicas afectan muchos sistemas biológicos, y sus efectos son relativamente de corta duración, sin tener impacto significativo en el bienestar del animal.

En contraste con los efectos del sistema nervioso autónomo, las hormonas secretadas por el sistema neuroendocrino (hipotálamo-hipófisis) tienen un efecto prolongado. La respuesta neuroendocrina más conocida al estrés es la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), iniciando con la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) por el hipotálamo, y posteriormente de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) por la hipófisis, para resultar en la secreción de las hormonas glucocorticoides de la glándula adrenal. Además de esos efectos, ocurre la secreción de vasopresina (ADH), oxitocina, prolactina, hormona somatotrópica (GH) y hormona estimuladora de la tiroides (TSH), que actúan promoviendo el aumento de la producción y secreción de ACTH y de β-endorfinas. La ACTH posee acción rápida, promoviendo el aumento de glucocorticoides en la sangre, pocos minutos después de su liberación. La ACTH también estimula la lipólisis y ejerce algún efecto sobre la producción de aldosterona.

Los glucocorticoides, en conjunto con las catecolaminas de la médula adrenal, estimulan la glucogenólisis, la lipólisis y el catabolismo de proteínas, alteraciones metabólicas destinadas a restablecer la homeostasis, a través de la producción y movilización de sustratos energéticos durante el estrés. No obstante, si el estrés es prolongado, los glucocorticoides actúan de forma destructiva en los tejidos, inhibiendo el crecimiento somático y óseo.

El aumento de la incidencia de enfermedades en animales con estrés puede ser atribuido a la supresión de su sistema inmunológico. Uno de los ejemplos más comunes es el incremento de problemas respiratorios en bovinos trasladados, lo que es atribuido a una supresión del sistema inmune causada por el estrés del transporte. Establecer una relación entre el efecto del estímulo estresante y el sistema inmunológico no es fácil. No obstante, la explicación de ese tipo de respuesta está directamente asociada a los efectos del cortisol, el cual causa atrofia significativa del tejido linfoide y disminuye la producción de linfocitos T y anticuerpos.

El efecto negativo del estrés sobre el desempeño reproductivo es bien conocido, pero los mecanismos exactos que controlan ese efecto no están dilucidados. Varios estudios evidencian que las alteraciones hormonales derivadas del estrés causan problemas reproductivos como baja tasa de fertilidad, atraso en la pubertad, aumento de la mortalidad embrionaria, anestro y ciclo estral irregular. El estrés altera las funciones reproductivas a través de tres niveles del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal: en el hipotálamo inhibe la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), en la hipófisis inhibe la liberación de las hormonas folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH), y en las gónadas disminuye la secreción de esteroides sexuales. La CRH ha sido considerada mediadora de los efectos antirreproductivos provocados por el estrés a través de su acción en el hipotálamo, inhibiendo la secreción de GnRH.

Actualmente uno de los grandes desafíos en veterinaria es evaluar clínica y laboratorialmente el estrés. Una alternativa es monitorear los sistemas de defensa inmune. El problema ha sido el desafío técnico de medir estos sistemas sin estresar aún más al animal. Indicadores sanguíneos para evaluar el estrés han incluido el cortisol, la glucosa, la fructosamina y las globulinas. En el hemograma se evidencia el clásico cuadro de estrés con neutrofilia y linfopenia. Una alternativa útil para minimizar el estrés de la recogida de muestras es determinar los corticoides fecales.

El cautiverio es un factor estresante para el animal, incluso algunas especies no consiguen adaptarse, desarrollando el llamado síndrome de mala adaptación, donde hay un proceso de anorexia que puede llevar a la muerte.

En animales domésticos ha sido demostrado que algunos factores estresantes llevan a la caída de la producción, trastornos reproductivos, disturbios de comportamiento y alteraciones fisiológicas importantes. En vacas lecheras el estrés calórico lleva a menos producción y calidad de la leche debido al menor consumo de materia seca, con balance energético negativo prolongado y aumento del intervalo entre partos debido a la falta de manifestación de estro y a disminución de la ovulación. Es conocida la mayor resistencia al calor en razas cebuinas (*Bos indicus*).

En cerdos la restricción alimentaria, una forma de manejo adoptado para evitar que las hembras lleguen con sobrepeso al final de la gestación, causa la aparición de comportamientos anormales; como los animales quedan saciados por menos tiempo, se observan inquietos, royendo barras de hierro y tragando aire (aerofagia).

Es evidente que la respuesta al estrés es una interacción entre diversos factores y eventos biológicos que, naturalmente, presentan gran variación entre animales, lo cual impide una aproximación confiable para evaluar el bienestar animal.

7.13 Hormonas de la glándula tiroides

En el **Cuadro 7.4** se presenta la cronología de los principales eventos relacionados con las glándulas tiroides y paratiroides.

Estructura de la tiroides

La tiroides es una glándula bilateral presente en todos los vertebrados, que tiene la peculiar característica de captar yodo. Se origina a partir del epitelio del piso de la faringe. La forma y el tamaño de la tiroides varían en las diferentes especies, pero generalmente es bilobulada. Está localizada lateralmente sobre la tráquea, debajo de la laringe. En los bovinos pesa 21-36 g, en los porcinos 12-30 g, en los equinos 20-35 g, en los ovinos 4-8 g y en el perro 4 g.

El istmo, región que conecta los dos lóbulos, es la que más varía entre las especies. En el cerdo y el humano el istmo es grande y piramidal, en la vaca tiene forma de una franja larga, mientras que, en el caballo, la oveja, la cabra, el perro y el gato el istmo es una estrecha banda, casi imperceptible.

Aproximadamente 50% de los perros adultos tienen tiroides accesorias en la grasa sobre la aorta pericardial, las cuales pueden ser localizadas mediante fijación de yodo radiactivo. Las tiroides accesorias por lo general aparecen como nódulos en número de una a cinco, de 1-2 mm de diámetro. No poseen células C, secretoras de calcitonina, y su origen es la cresta neural. Las tiroides accesorias responden a TSH y son completamente funcionales. En gatos la presencia de tejido tiroideo ectópico es común desde la base de la lengua hasta la base del corazón.

La unidad anatómica y funcional de la tiroides es el folículo tiroideo (**Figura 7.18**), de tamaño variado (0,02 a 0,9 mm de diámetro), el cual está rodeado de células epiteliales o células foliculares. En el interior de los folículos está el coloide, secreción clara y viscosa que contiene tiroglobulina, una glucoproteína que contiene oligosacáridos formados por hexosamina, galactosa, manosa y otros glúcidos, además de aminoácidos yodados o yodotirosinas, tales como la monoyodotirosina (MIT) y la diyodotirosina (DIT), así como compuestos derivados o yodotironinas, como la triyodotironina (T_3) y la tetrayodotironina o tiroxina (T_4). Las dos últimas son las hormonas tiroidianas (HT).

El epitelio del folículo es de tipo cuboidal. Si la glándula está muy activa, tiene apariencia columnar. Los espacios entre los folículos poseen, además del parénquima, las células parafoliculares o células C, fuente de la hormona calcitonina, asociada al metabolismo del calcio. El coloide se sintetiza por las células foliculares, las cuales son ricas en gránulos citoplasmáticos y tienen microvellosidades y pseudópodos en su membrana apical, al lado del lumen del coloide. En la tiroides están las glándulas paratiroides, que secretan la hormona paratiroidea (PTH). En la tiroidectomía es prácticamente inevitable la remoción de parte de las paratiroides, lo que puede provocar hipocalcemia severa.

Biosíntesis de las hormonas tiroideas

En la tiroides se sintetizan tres hormonas, la 3,3',5'-triyodotironina (T_3), la 3,5,3',5'-tetrayodotironina o tiroxina (T_4) y la calcitonina. Las dos primeras son sintetizadas en los folículos y están relacionadas

Cuadro 7.4 Cronología de eventos relacionados a las glándulas tiroides y paratiroides

175	El médico y filósofo romano de origen griego Claudio Galeno describe la tiroides como órgano, atribuyéndole funciones lubrificantes para la laringe.
1656	Thomas Wharton describe en su libro Adenographia una glándula doble que llama tiroides debido a su forma (del griego thyreos, escudo oblongo, y eidos, forma). A pesar de estar equivocado al pensar que eran dos en vez de bilobulada, hizo una acertada descripción de su vascularización, peso y consistencia.
1830	Prevost postuló que el bocio humano era debido a la falta de yodo, con base en las observaciones de Coindet (1820), y recomendó el uso de agua yodada para prevenir la enfermedad.
1831	Boussingault propone la inclusión de yodo en la sal, práctica que persiste hasta hoy en día en el mundo.
1835	Graves describe la enfermedad que lleva su nombre, caracterizada por hipertiroidismo.
1839	Albers dibuja las paratiroides.
1855	Remak describe las paratiroides en el gato.
1863	Virchow describe las paratiroides en el humano.
1880	Sandströen hace un meticuloso análisis de las paratiroides, y propone este nombre, significando "relacionadas con la tiroides", por lo cual se considera su descubridor.
1882	Hadden observa que la tiroides afecta el metabolismo y describe los síntomas del mixedema causado por hipotiroidismo agregando que ocurría mejora cuando se administraban extractos de tiroides.
1893	Müller, estudiando el bocio exoftálmico, concluye que la tiroides acelera la oxidación de los alimentos, aumentando el metabolismo.
1895	Baumann descubre la presencia de yodo en la tiroides, unido a globulinas.
1896	Oswald demuestra que el contenido de yodo está en relación directa con el coloide folicular y llama "tiroglobulina" a una proteína yodada aislada del coloide.
1901	Los trabajos de Vassale llevan a concluir que las paratiroides no tienen relación funcional con la tiroides.
1906	Erdheim describe la hiperplasia de las paratiroides en la osteomalacia y, además, confirma la importancia de las paratiroides en la etiología de la tetania..

1908	McCallum y Voetlin muestran la ocurrencia de hipocalcemia después de la paratiroidectomía, la cual podía ser prevenida con administración de calcio. Salveson relaciona la aparición de la tetania con la baja del calcio sanguíneo a menos de 7,0 mg/dL.
1912	Se describe la tiroiditis autoinmune de Hashimoto que resulta en hipotiroidismo
1914	Kendall aísla una hormona tiroidiana a la que da el nombre de "tiroxina" y publica los efectos fisiológicos de esta hormona.
1925	Collip, en Canadá, obtiene extractos de paratiroides con actividad biológica y llama al compuesto parathormona (PTH). Collip y su grupo pensaban que la acción primaria de la PTH era sobre el hueso, mientras que Albright, en Boston, consideraba que la acción era sobre los riñones, aumentando la excreción de fosfato.
1926	Harrington establece que la tiroxina es derivada del aminoácido tirosina y contiene cuatro átomos de yodo y dos anillos fenólicos.
1930	Harrington y Salte demuestran que la tiroxina se encuentra unida a la molécula de tiroglobulina.
1930	Gross encuentra otra sustancia yodada diferente de la tiroxina a la que llama "triyodotironina"; postula que la tiroxina pierde yodo en los tejidos periféricos y que la triyodotironina sería la forma activa de la hormona tiroidiana.
1943	Hertz y Roberts introducen el uso de 131I en el tratamiento del hipertiroidismo.
1948-1951	Barnicot comprueba que la PTH actúa causando desmineralización (resorción) ósea, aumentando el número de osteoclastos, lo que fue comprobado por Chang.
1959	Rasmussen y Craig hacen estudios más detallados de la fisiología de la paratiroides, después de la purificación de la PTH y mediante el uso de 45Ca.
1962-1963	Copp y Cheney descubren la presencia de una sustancia que causa disminución del calcio sanguíneo en un perfundido de tiroides y paratiroides. Hirsch y su grupo, muestran que tal sustancia pertenece a la tiroides y proponen el término tirocalcitonina.
1966	El grupo de Foster afirma que la tirocalcitonina es producida por las células parafoliculares de la tiroides. Posteriormente, Pearse y Carvanleira llama células C a las células productoras de la hormona y constatan que están presentes, no solo en la tiroides, sino también en la paratiroides y en el timo. Así, se opta por la denominación 'calcitonina' a la hormona producida por esas células.
1979	Peterson describe el primer caso de hipertiroidismo en felinos, que hoy es el principal trastorno endocrino en gatos, sobre todo viejos.

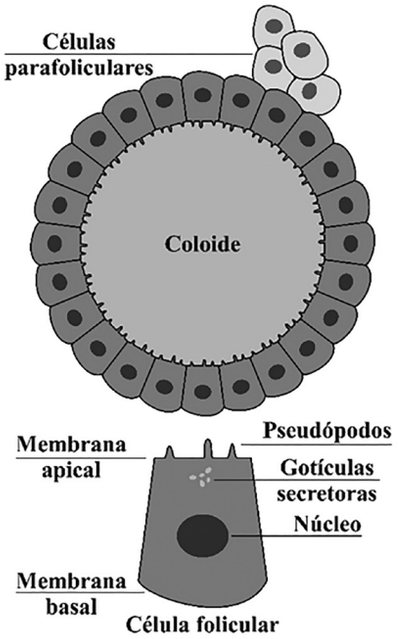


Figura 7.18 Estructura del folículo tiroideo

Unidad anatómica y funcional de la tiroides, el folículo está rodeado por una capa simple de células epiteliales cuboides. En el interior de los folículos está el coloide, secreción clara y viscosa que contiene la proteína tiroglobulina, la cual contiene numerosos residuos de tirosina, tironinas y hormonas tiroideas. Por fuera de los folículos se encuentran las células parafoliculares que secretan la hormona calcitonina, con propiedades hipercalcemiantes.

con la regulación del metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas, así como con el crecimiento y la diferenciación celular, mientras que la calcitonina, sintetizada en las células C, tiene que ver con el control hormonal de los niveles de calcio en la sangre.

La biosíntesis de las hormonas tiroideas en los folículos es única en el sentido de que el montaje final es realizado extracelularmente, en el coloide del folículo. La molécula de T_4 contiene 65 % de su peso en yodo, mientras que la molécula de T_3 contiene 58 %. Para eso contribuye el hecho de que el peso molecular del yodo (≈127 Da) es de los más altos entre los elementos.

Después que el yodo es captado y oxidado por las células foliculares, es incorporado a los residuos de tirosina, los cuales son muy abundantes en la tiroglobulina, para formar MIT y DIT (**Figura 7.19**). El yodo en la forma de MIT y DIT reúne el 70 % del yodo tiroideo. Esas dos yodotirosinas pueden formar enzimáticamente las hormonas tiroideas mediante el acoplamiento por condensación oxidativa de dos DIT para dar T_4, o una DIT y una MIT para dar T_3 (**Figura 7.20**). Esta condensación, que requiere energía, ocurre en la interface coloide-membrana de la célula folicular, siendo susceptible de ser inhibida por sulfas, tiourea y ácido paraaminobenzóico (PABA). En condiciones de suministro normal de yodo la relación T_4/T_3 en la tiroglobulina es de 4 a 7, la cual puede disminuir en condiciones de deficiencia de yodo.

La tiroglobulina es de gran tamaño, con peso molecular de 660 kDa, y tiene 5.650 residuos de aminoácidos. Su peso está representado por 10 % de oligosacáridos, 3 % tirosina (170 residuos) y 0,5 % yodo. Se sintetiza exclusivamente por las células foliculares tiroideas. La tiroglobulina sintetizada sale vía aparato de Golgi por exocitosis al interior del coloide y es captada de nuevo por la célula folicular desde el coloide, por pinocitosis y estímulo de la TSH, donde se hidroliza en los lisosomas para liberar MIT, DIT, T_3 y T_4. Las yodotirosinas MIT y DIT son deyodadas a fin de reciclar el yodo en la glándula, mientras que las T_4 y T_3 salen a la corriente circulatoria por difusión simple.

La T_4 es predominante en todos los animales, aunque la T_3 sea la hormona biológicamente activa. Del total de hormona liberada, 90 % es T_4, y 10 % es T_3. Existe alguna deyodación de T_4 en la tiroides para formar T_3 reversa (rT_3), la cual es inactiva, pero la mayoría de la deyodación de T_4 ocurre en las células-blanco de las HT. La **Figura 7.21** resume los eventos de síntesis de las hormonas tiroideas.

Transporte y metabolización de las hormonas tiroideas

Las hormonas T_3 y T_4 liberadas en la sangre se conjugan con proteínas plasmáticas transportadoras, principalmente la globulina transportadora de tiroxina (TBG) y, en menor grado, la prealbúmina y la albúmina. Cerca de 0,5 % de las HT están en la sangre de forma libre, biológicamente activa, en equilibrio con la fracción conjugada. En el gato, la rata, el conejo y la gallina no existe TBG, puesto que la mayoría de las HT son transportadas por la albúmina. La unión de las HT a las proteínas transportadoras disminuye su pérdida por los riñones y aumenta su vida media, sirviendo

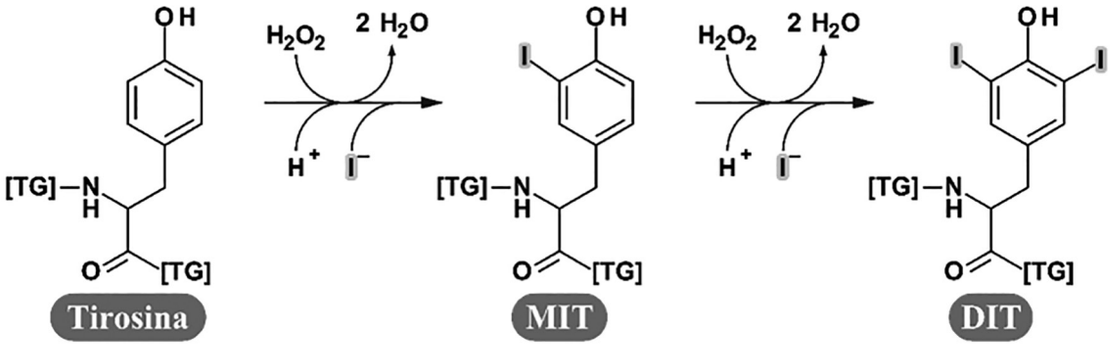


Figura 7.19 Etapas iniciales en la biosíntesis de las hormonas tiroideas

Residuos de tirosina de la tiroglobulina ([TG]) son yodados por acción de la tiroperoxidasa, generando la 3-yodotirosina (también llamada monoyodotirosina, MIT) y, después de la adición de un segundo ion yoduro I^-, la 3,5-di-yodotirosina (DIT). Ambos, MIT y DIT, se generan simultáneamente.

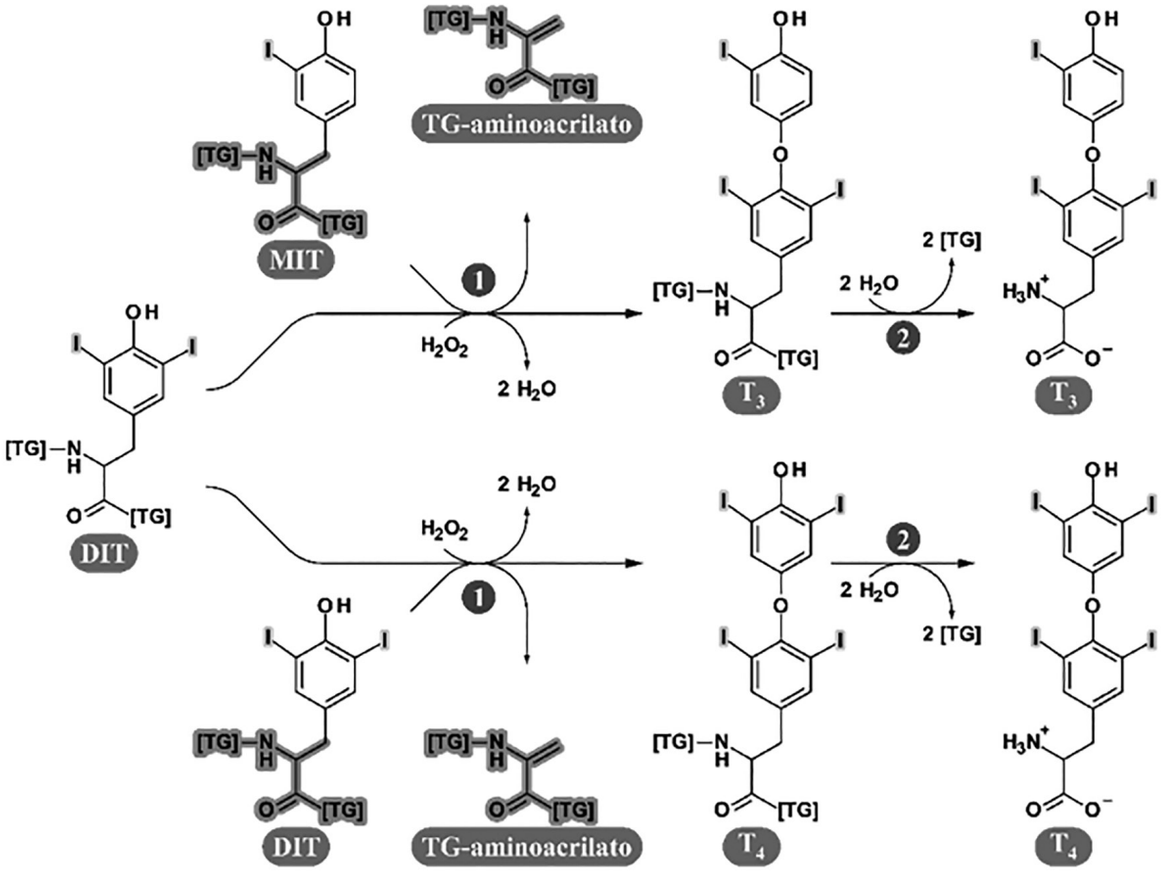


Figura 7.20 Etapas finales en la biosíntesis de las hormonas tiroideas

Tan pronto como se genera la 3,5-di-yodotirosina (DIT), esta puede recibir un segundo grupo aromático proveniente de la monoyodotirosina, (MIT), produciendo la 3,5,3'-tri-yodotironina (T_3), todavía unida a la tiroglobulina ([TG]). Alternativamente, la DIT puede recibir un segundo grupo aromático proveniente de la 3,5-di-yodotirosina (DIT), produciendo la 3,5,3',5'-tetra-yodotironina (también llamada tiroxina o T_4), igualmente unida a la tiroglobulina. En la etapa final, T_3 y T_4 son hidrolizados de la tiroglobulina, liberando las hormonas y fragmentos de TG. Las enzimas participantes son: [1] tiroperoxidasa y [2] hidrolasa.

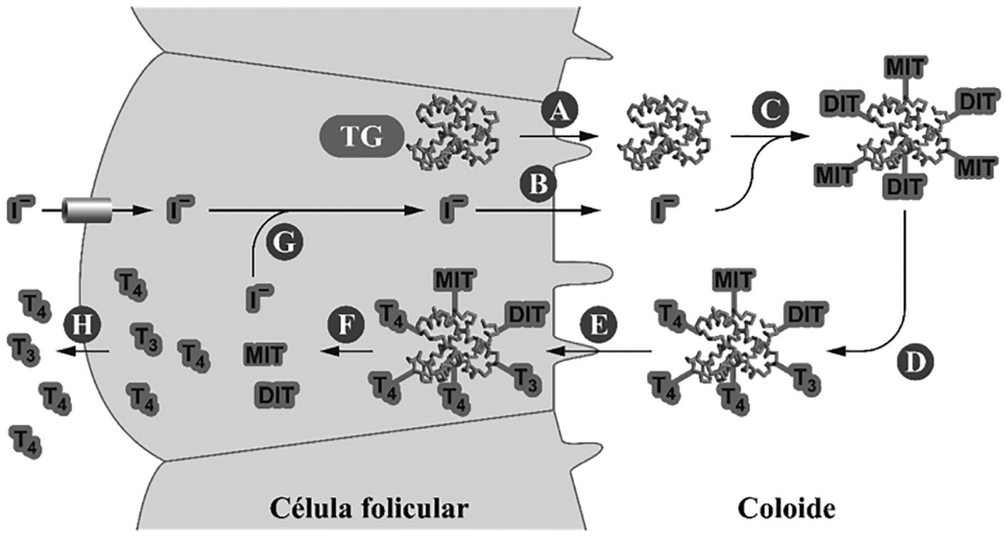


Figura 7.21 Esquema general de la producción de hormonas tiroideas por las células foliculares

La tiroglobulina (TG) es producida por las células foliculares y secretada por exocitosis al lumen del folículo (etapa A). Simultáneamente, los iones yoduro (I^-), provenientes de la corriente circulatoria y transportados activamente al interior de la célula folicular, también son liberados para el coloide (etapa B). En el interior del coloide los residuos de tirosina de la TG son yodados (etapa C), con la formación de monoyodotirosina (MIT) y diyodotirosina (DIT). Múltiples residuos de MIT y DIT de la TG son entonces convertidos en T_3 y T_4 por la tiroperoxidasa (etapa D). Por endocitosis la TG penetra en la célula folicular (etapa E), donde sufrirá proteólisis, liberando MIT, DIT, T_3 y T_4 (etapa F). El yodo contenido en MIT y DIT es reciclado, de modo que puede ser usado de nuevo (etapa G). Finalmente, las hormonas T_3 y T_4 son liberadas a la corriente circulatoria (etapa H). Consultar la **Figura 7.18** para la estructura del folículo tiroideo.

de importante reservorio de las hormonas. Por otro lado, las proteínas transportadoras desempeñan un papel regulador de los niveles hormonales funcionales.

La TBG capta cerca de 75% de la T_4 y su unión puede ser estimulada con esteroides sexuales e inhibida con salicilatos. La afinidad de la T_3 por la TBG es menor, lo que le permite mayor facilidad de difusión a los tejidos. Aproximadamente 15% de la T_4 está asociada a la prealbúmina, no habiendo unión de la T_3 a esta proteína. La albúmina une T_3 y T_4 con mucho menos afinidad que la TBG.

La T_3 es la hormona activa en la célula-blanco, mientras que la T_4 funciona como una forma de reserva. Gran parte de la T_4 es deyodada a T_3 por una deyodasa específica, que contiene selenio en su estructura, principalmente en el hígado, el riñón y en los órganos-blanco, proceso de gran importancia porque la T_3 es la hormona que ejerce la mayor parte de la acción tiroidea del organismo. La potencia de la T_3 es tres-cuatro veces mayor que la T_4 y sus efectos metabólicos son más rápidos. La T_3 es también el metabolito que controla la secreción de TSH.

La inactivación de las yodotironinas ocurre por deyodación, por conjugación con glicuronato o con sulfato, o por oxidación, procesos que ocurren a nivel hepático y, en menor grado, renal.

En determinadas condiciones metabólicas la T_4 puede también sufrir una deyodación específica en los órganos-blanco, en la posición 5 de la T_4 mediante la enzima 5'-deyodasa, para ser convertida en 3,3',5'-triyodotironina o T_3 reversa (rT_3), la cual es biológicamente inactiva. Ese mecanismo puede servir para atenuar los efectos metabólicos de las HT, especialmente en situaciones de subnutrición, enfermedad febril, daños hepático o renal, o en animales neonatos.

La vida media de la T_4 es de siete días, y la de T_3 es de dos días. Debido a la mayor facilidad de penetración de la T_3 en las células esta hormona tiene menor vida media y se encuentra en menos cantidad en el plasma. La relación T_4/T_3 en el plasma sanguíneo es de 20/1 o más (**Figura 7.22**). La mayor parte de la T_3 en circulación es originada en la tiroides, aunque también puede ser producto de la deyodación periférica de la T_4.

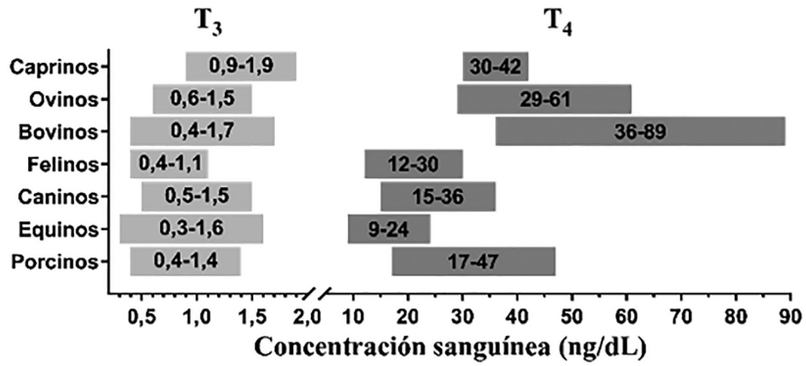


Figura 7.22 Valores de referencia en concentraciones sanguíneas de T_3 y T_4 en algunas especies domésticas

Funciones de las hormonas tiroideas

El gran interrogante hasta hoy en razón de la ubicuidad de las hormonas tiroideas es saber si sus efectos son consecuencia de una acción primaria directa sobre las células de casi todo el organismo, o si son el resultado de interacciones de las hormonas con constituyentes celulares. Las HT actúan sobre muchas células-blanco en el organismo. A seguir, algunas de las acciones más importantes de esas hormonas.

Una de las funciones más importantes de la glándula tiroides es el control que ejerce sobre el consumo de O_2 y la generación de calor, esta última de especial importancia en los animales homeotermos. En general, el efecto es aumentar el metabolismo basal. Las hormonas tiroideas incrementan el consumo de oxígeno en los tejidos cardiaco, hepático, muscular, renal, glándulas salivares, páncreas y leucocitos. El mecanismo íntimo por el cual la actividad hormonal tiroidea aumenta el gasto energético celular aún está en discusión. Varios autores sustentan que el mayor consumo de O_2 es debido a un estímulo en la bomba de sodio, pues tal consumo es bloqueado *in vitro* en presencia de ouabaína, compuesto inhibidor de la bomba. Inhibidores de la síntesis de proteínas o de mRNA también causan disminución en el consumo de O_2; así, es posible que las hormonas tiroideas ejerzan su acción a través de la síntesis proteica.

Las hormonas tiroideas incrementan la utilización de glucosa por las células mejorando la absorción de glucosa desde el lumen intestinal, lo que lleva a hiperglucemia. En el hipertiroidismo la hiperglucemia provoca hipersecreción insulínica, llevando eventualmente a un agotamiento de las células β del páncreas y posterior diabetes mellitus. En un cuadro diabético las hormonas tiroideas agravan la situación, no solo por aumentar la absorción de glucosa intestinal, sino porque incrementan la glucogenólisis en el hígado.

Las hormonas tiroideas también estimulan la síntesis proteica. No obstante, cantidades excesivas (hipertiroidismo) la inhiben, provocando aumento del catabolismo proteico y mayor excreción de nitrógeno en la orina. En el hipotiroidismo ocurre efecto anabolizante, particularmente sobre las proteínas tisulares y plasmáticas, mas el efecto es catabólico sobre las restantes proteínas extracelulares. Las hormonas tiroideas también tienen influencia sobre los procesos tanto de biosíntesis como de movilización y degradación de los triglicéridos. Cantidades altas de HT aumentan el proceso degradativo, con disminución de los depósitos grasos y los niveles plasmáticos de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol.

Las hormonas tiroideas, junto con la somatotropina y la insulina, son esenciales para el crecimiento y el desarrollo. La barrera placentaria permite el paso de hormonas tiroideas, de forma que el feto no necesita producir intrínsecamente esas hormonas para su crecimiento, por ser absolutamente dependiente de la fuente materna. En los neonatos la concentración de T_4 es mayor que en los adultos, por lo cual ha sido sugerido que a esa edad existe un estado de hiperactividad funcional. En los vertebrados de sangre caliente las hormonas tiroideas son consideradas un prerrequisito para el crecimiento normal. Aunque el papel principal en esta función sea asumido por la somatotropina, las hormonas tiroideas tienen efecto sobre el crecimiento

máximo. El mecanismo de acción de las hormonas tiroideas en la maduración, el crecimiento y el desarrollo es desconocido, probablemente esté relacionado con la transcripción del mensaje genético en el mRNA y con la biosíntesis ribosomal de proteínas esenciales para el crecimiento de los tejidos.

Las hormonas tiroideas estimulan específica e irreversiblemente la maduración esquelética. La sensibilidad entre los diferentes huesos a las HT es muy variable, al punto que un exceso de esas hormonas puede causar una desmineralización ósea considerable.

La actividad tiroidea es importante en la aclimatación de los animales homeotermos, aquellos con temperatura corporal constante ante extremos en la temperatura ambiental, siendo de menor importancia en los animales poiquilotermos, cuya temperatura corporal varía en función de la temperatura ambiental. En casos de hipotiroidismo los animales se tornan más sensibles al frío, al tiempo que ocurre hipertrofia de la glándula. Es posible que este cambio exprese modificaciones de los requerimientos calóricos a fin de lograr mayor eficiencia en la regulación térmica. En la adaptación al frío es observada mayor interconversión de T_4 a T_3 en los tejidos periféricos, lo que permite disponer con mayor rapidez de la hormona biológicamente activa para compensar los requerimientos calóricos. Los procesos de hibernación tienen un componente tiroidiano en su control, pues en ese estado el metabolismo basal de los animales disminuye. El incremento en la calorigénesis provocado por el frío también puede ser obtenido por acción de las catecolaminas y la hiperactividad muscular, desapareciendo con la anestesia. Es posible que las hormonas tiroideas no inicien el fenómeno, pero sí actúen de modo permisivo sobre las catecolaminas.

Los glucocorticoides inhiben la actividad tiroidea; no obstante, las situaciones estresantes modifican en grado diverso la respuesta tiroidea. Así, si la respuesta adrenocortical al estrés falla o es insuficiente puede ocurrir activación del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides.

Las hormonas tiroideas provocan manifestaciones similares a la actividad simpática, esto es, taquicardia, hipertensión arterial sistólica, incremento en el gasto cardíaco y menor tiempo de circulación. A nivel renal las hormonas tiroideas aumentan el volumen de filtración glomerular y los tiempos medios de filtración para diferentes sustancias. Finalmente, las HT contribuyen en el funcionamiento normal del sistema nervioso central. En la deficiencia de HT el animal se torna incoordinado, mentalmente deficiente y letárgico. En esos casos ocurre disminución de la mielina en las fibras nerviosas y las sinapsis, y reducción de la vascularización del SNC. En el animal joven las neuronas pueden sufrir daño irreversible si faltan las HT. Por otro lado, el exceso de HT ocasiona efectos estimulatorios sobre el SNC y el animal se torna hiperactivo e irritable.

Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas

La T_3 es la forma activa de las HT en las células-blanco. La T_4 es rápidamente deyodada en las células-blanco para formar T_3 activa o rT_3 inactiva, dependiendo de las necesidades de la célula. El mecanismo general de acción propuesto para las hormonas tiroideas está basado en la existencia de receptores nucleares con mayor capacidad de unión por la T_3 que por la T_4. El complejo hormona-receptor estimula, por algún mecanismo aún desconocido, la actividad de la RNA polimerasa DNA dependiente para provocar mayor síntesis de mRNA y, por tanto, de proteínas, las cuales generalmente son enzimas específicas que afectan el metabolismo.

Se ha observado además que las hormonas tiroideas estimulan la actividad ATPásica de la membrana celular estimulando la bomba de sodio, lo que también aumenta el consumo de O_2. La ouabaína, compuesto inhibidor de la bomba Na-K, inhibe asimismo el efecto hormonal sobre el consumo de O_2. La idea de que las hormonas tiroideas producen aumento del consumo de O_2 y de la calorigénesis mediante desacoplamiento de la fosforilación oxidativa en la mitocondria, ha sido sugerida por varios autores, aunque otros argumenten evidencias en contra:

(a) Otros desacoplantes, como 2,4-dinitrofenol, carecen de las acciones fisiológicas de las hormonas tiroideas.

(b) Inhibidores de la síntesis proteica, como la puromicina, inhiben la acción calorigénica de las hormonas tiroideas, lo cual sugiere que esta acción es mediada por proteínas (enzimas).

(c) El efecto desacoplante solo se observa con elevadas concentraciones, no fisiológicas, de hormonas tiroideas *in vitro* (10^5 M). Las HT también tienen un

efecto importante en la eritropoyesis. En exceso las hormonas estimulan la secreción de eritropoyetina en el riñón y actúan directamente en la médula ósea estimulando la serie eritroide. El resultado es tendencia a eritrocitosis y hematocrito elevado. Lo opuesto se observa en el hipotiroidismo, donde la anemia es una característica frecuente.

Regulación de la función tiroidea

La secreción de las hormonas tiroideas es provocada por la hormona estimulante de la tiroides (TSH) o tirotropina, producida en la adenohipófisis. La liberación de TSH es, a su vez, estimulada por la hormona liberadora da tirotropina (TRH), producida en el hipotálamo y transportada por el sistema portal hipotálamo-hipófisis (**Figura 7.23**).

La homeostasis de la secreción tiroidea obedece a una regulación *feedback* negativa mediante la inhibición ejercida sobre las hormonas hipotálamo-hipofisarias por las hormonas tiroideas libres. La TRH carece de especificidad de especie. Aparentemente sus efectos son más notorios en la liberación que en la síntesis de TSH, pues los efectos no son modificados con inhibidores de la síntesis proteica. La acción de la TRH sobre las células hipofisarias se extiende a la secreción de GH y prolactina, mediante la estimulación del sistema adenilciclasa-cAMP y la promoción de la entrada de Ca^{2+}. La somatostatina, péptido hipotalámico que inhibe la secreción de GH, también inhibe que la secreción de TRH sea provocada por el frío, el estrés, o por un ritmo circadiano de TSH, teniendo la noradrenalina como neurotransmisor (receptores α).

La TSH activa la tiroides, o sea, provoca aumento de la captación de yodo, incrementando también la yodación de Tyr y la hidrólisis de tiroglobulina. La TSH promueve la elongación de las microvellosidades y la formación de pseudópodos de las células foliculares. Esas proyecciones se extienden dentro del coloide para fagocitar, de forma indiscriminada, gotas coloidales que se fusionan a los lisosomas, donde actúan enzimas proteolíticas que liberan yodotironinas de la tiroglobulina.

La TSH aumenta la biosíntesis de tiroglobulina y, por tanto, de T_3 y T_4, proceso que viene acompañado de un mayor consumo de O_2 y de la glucólisis, así como por un incremento en el contenido de RNA y en la producción de CO_2 y de ácido láctico en las células foliculares. La administración prolongada de TSH mayor número y tamaño de las células foliculares e incrementa la vascularización de la tiroides. Las células

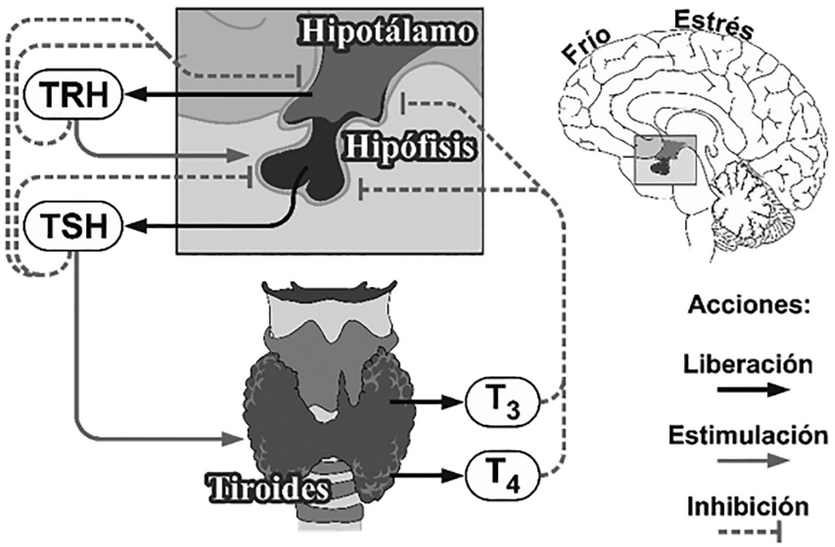


Figura 7.23 Regulación de la función tiroidea

En respuesta a estímulos externos la TRH (hormona liberadora de tirotropina) se produce en el hipotálamo, estimulando la hipófisis para producir la TSH (hormona estimuladora de la tiroides). La TSH, a su vez, estimula la tiroides para la producción de las hormonas T_3 y T_4. El control por retroalimentación negativa actúa en diferentes niveles. Tanto la TRH como la TSH inhiben sus propias secreciones, mientras que esta última también actúa sobre el hipotálamo inhibiendo la secreción de TRH. Finalmente, T_3 y T_4 inhiben la secreción de TRH, por el hipotálamo, y de TSH por la hipófisis.

toman aspecto columnar y el lumen folicular disminuye debido al aumento de la endocitosis del coloide.

Aunque la TSH estimule los niveles de AMP cíclico, no se puede afirmar que este sea el mediador de la acción de la TSH, pues cuando se aplica cAMP en células hipofisiarias *in vitro* no son reproducidas las acciones de esta hormona. La respuesta de la tiroides a la TSH se modifica por el nivel de yodo. Cuando el consumo de yodo es alto la acción de la TSH se inhibe, disminuyendo el tamaño y la actividad de las células foliculares. Cuando el consumo de yodo es bajo ocurre hipertrofia compensatoria de la glándula, aumentando el número, el tamaño y la respuesta a TSH de las células foliculares. Existen dos mecanismos *feedback* negativo de asa larga que las HT ejercen sobre la secreción de TSH: uno lento, el cual actúa sobre el hipotálamo; y otro rápido, que actúa sobre la adenohipófisis. También existe un mecanismo de asa corta en el cual la TSH inhibe la secreción de TRH, así como una autorregulación de TSH y TRH sobre sus propias secreciones (asa ultracorta).

7.14 Trastornos de la función tiroidiana

Los trastornos de la glándula tiroides son más comunes en los pequeños que en los grandes animales. En estos últimos tiene mayor importancia la deficiencia nutricional de yodo, que puede llevar a signos clínicos compatibles con hipotiroidismo.

Hipotiroidismo

El hipotiroidismo es un trastorno endocrino común en perros, y extremadamente raro en gatos, siendo muy desafiador su diagnóstico; sin embargo, una vez diagnosticado y tratado de manera adecuada presenta excelente pronóstico. Ya fue considerada la endocrinopatía más común en perros, estimándose su prevalencia en torno al 0,2 % - 0,6 % de la población canina. En la actualidad el hipotiroidismo es menos frecuente que el hiperadrenocortisolismo y la diabetes mellitus. Algunas razas presentan mayor predisposición, a pesar de ser un trastorno posible de ocurrir en cualquier raza. Los perros afectados son de media a avanzada edad, con un promedio de 7 años de edad al diagnóstico, aunque en algunos casos este puede ser hecho en perros más jóvenes. Algunos estudios evidenciaron mayor riesgo en hembras castradas que en machos, a pesar de que, en general, la presentación del trastorno parece tener distribuciones similares entre machos y hembras. Perros de razas grandes tienden a desarrollar los síntomas más jóvenes.

Etiopatogenia del hipotiroidismo

El hipotiroidismo puede ser consecuencia de trastornos primarios de la tiroides o secundaria por lesión hipotálamo-hipofisaria. En perros adultos con hipotiroidismo espontáneo la gran mayoría de los casos pueden ser considerados primarios. El proceso es lento y progresivo, llevando a la total destrucción del parénquima glandular a lo largo de meses o años de evolución. No obstante, se cree que los signos clínicos de hipotiroidismo solo se vuelven evidentes cuando más del 75 % del parénquima glandular está afuncional. Pueden ser diferenciadas dos causas de hipotiroidismo primario: la tiroiditis linfocítica y la atrofia idiopática.

La tiroiditis linfocítica en los perros es parecida a la enfermedad de Hashimoto en los humanos, estando asociada a aspectos genéticos. El proceso representa una alteración autoinmune, donde ocurre ataque a la glándula tiroides y sus componentes que resulta en infiltración linfocítica, macrofágica y plasmocítica en el parénquima glandular, con consecuente sustitución de los folículos por tejido conjuntivo fibroso, lo cual parece ser más común en ciertas razas como el Boxer. La medición de anticuerpos antitiroglobulina (TgAA) puede auxiliar en la identificación de perros con el proceso de tiroiditis en desarrollo, aunque sin signos clínicos evidentes.

La atrofia idiopática es de etiología desconocida, aunque sea conocido que no involucra la secreción de TSH. Es responsable casi prácticamente de todos los demás casos de hipotiroidismo primario no causados por tiroiditis. Se caracteriza por la degeneración del tejido glandular, que es sustituido por tejido adiposo sin presencia de infiltrado inflamatorio. Muchos autores consideran que la atrofia idiopática de tiroides puede, en realidad, ser una etapa bastante avanzada de la tiroiditis linfocítica, y que en el momento de la evaluación no habría más infiltrados inflamatorios ya que el proceso autoinmune habría ocurrido mucho tiempo antes. Esta hipótesis está sustentada por la edad más joven en la cual los animales presentan la tiroiditis linfocítica en comparación con perros con atrofia de tiroides. La atrofia idiopática ocurre más

frecuentemente en perros de las razas Doberman Pinscher, Beagle y Golden Retriever.

Otras causas involucradas en el hipotiroidismo primario son tumores destructivos, iatrogenia por tratamiento de hipertiroidismo felino o tumores de tiroides caninos y defectos congénitos o por deficiencia de yodo en la alimentación (bocio). En el hipotiroidismo primario hay abundante secreción de TSH debido a un esfuerzo para compensar la deficiencia de tiroides.

El hipotiroidismo secundario o central por lesiones hipotálamo-hipofisarias es poco común. En estos casos la reducida secreción de TSH resulta en falta de estimulación adecuada de la glándula tiroides, siendo observados folículos distendidos llenos de coloide con células foliculares planas que reflejan la degeneración y atrofia del epitelio glandular. Esta forma de presentación del trastorno representa cerca del 5% de los casos de hipotiroidismo espontáneos. Las causas más comunes de secreción reducida de TSH están asociadas a tumores hipofisarios, deficiencia congénita de TSH o hipofisectomía, o secundaria a un hiperadrenocorticismo o por uso crónico de glucocorticoides. La deficiente producción hipotalámica de TRH no fue descrita en perros, a pesar de ser bien conocida en humanos.

El hipotiroidismo congénito es una anormalidad rara en medicina veterinaria, aunque puede estar siendo subestimado, pues la mayoría de los cachorros afectados nacen muertos o viven poco tiempo, con lo cual no se identifica la causa de la muerte. El proceso patológico incluye hipoplasia, aplasia y disgenesia. Los perros que sobreviven desarrollan un cuadro típico reconocido como cretinismo. Los animales tienen baja estatura y presentan malformaciones (disgenesia epifisaria, atraso en la maduración de la epífisis, macroglosia, macrocefalia, retardo en la erupción de los dientes). Artritis crónicas son comunes en los animales que sobreviven a consecuencia de las malformaciones óseas. El cretinismo es muy común en el Schnauzer miniatura, y ya es conocida la base genética de esta alteración. Sin embargo, muchos perros no sufren de enanismo además del cretinismo.

Los felinos rara vez desarrollan este disturbio. La presentación natural puede estar asociada a un problema congénito (agenesia, disgenesia o dishormonogénesis). La tiroiditis linfocítica, de forma semejante a la observada en el perro, ha sido descrita. Sin embargo, la causa más común de hipotiroidismo felino es la destrucción o retirada de la tiroides después del tratamiento con yodo radioactivo o cirugía para hipertiroidismo.

Los signos clínicos observados en cachorros de gato con hipotiroidismo congénito varían desde la reducción de la tasa de crecimiento después de 4 semanas de vida, enanismo desproporcionado, letargo, retardo mental, bradicardia, hipotermia, estreñimiento y pérdida de peso, hasta orejas pequeñas, dificultad en la erupción de los dientes permanentes y retardo en el cierre de las epífisis. Felinos con hipotiroidismo congénito viven menos de 4 meses, aunque animales hipotiroideos con actividad deficiente de la peroxidasa pueden desarrollar bocio y compensar la falta de hormonas en el plasma. Gatos que manifiestan el trastorno en la fase adulta presentan seborrea seca, pelos sin brillo, letargo, depresión, ganancia de peso, hipotermia y bradicardia. La presentación de mixedema también puede ser observada.

En rumiantes ocurre defecto congénito en la producción de tiroglobulina, proteína almacenadora de hormonas de la tiroides, causando hipotiroidismo. El proceso acontece por un problema en la transcripción del RNAm de la tiroglobulina.

El hipotiroidismo por falta de yodo puede ocurrir debido a la no suplementación de este mineral en la sal. La falta de yodo impide la producción de las hormonas de la tiroides, pero no de tiroglobulina. Por efecto *feedback* negativo ocurre incremento en la producción de TSH, induciendo la producción de elevadas cantidades de tiroglobulina, con incremento del tamaño de la glándula. Este aumento puede causar dificultad respiratoria y de deglución, así como estasis sanguínea al comprimir las venas yugulares. Algunas sustancias, conocidas como bociogénicas, alteran la síntesis, liberación o acción de las hormonas de la tiroides; entre ellas están los tiocianuros, producidos en el rumen por la digestión de plantas con glucósidos cianogénicos (trébol blanco, sésamo, soya), la goitrina, presente en las plantas crucíferas del género *Brassica* (repollo, col, brócoli), y la mimosina, aminoácido presente en la leguminosa *Leucaena leucocephala*. El exceso de yodo derivado del exceso de ingestión de algas secas o intoxicaciones con desinfectantes que contienen yodo en su formulación, causa bocio porque interfiere en la biosíntesis de las hormonas de la tiroides.

Las sustancias bociogénicas pueden actuar en diferentes niveles del sistema de síntesis de las hormonas de la tiroides, tales como:

(a) Deficiencia en la captación de yoduro hacia el interior de las células de la tiroides (tiocianuros).

(b) Deficiencia de la peroxidasa que oxida los yoduros (exceso de yodo).

(c) Deficiente acoplamiento de las tirosinas yodadas a la tiroglobulina (goitrina).

(d) Deficiente proteólisis de la tiroglobulina en los lisosomas (exceso de yodo).

(e) Inhibición de la síntesis de tiroglobulina (tiouracilo).

(f) Inhibición de la oxidación del yoduro (tiourea).

(g) Inhibición de la absorción de tirosina (sulfonamidas).

Existen también deficiencias enzimáticas, como la de la T_4-deyodasa, que pueden ser de origen genético, observadas en humanos, ovinos (principalmente de las razas Corriedale, Merino, Romney Marsh y Dorset Horn, caprinos (de la raza Saanen) y en bovinos de la raza Afrikander. El problema parece tener origen en un gen autosómico recesivo.

Signos clínicos del hipotiroidismo

Clínicamente los signos del hipotiroidismo revelan disminución de la tasa metabólica. A pesar de un gran repertorio de signos clínicos atribuibles al hipotiroidismo, difícilmente se observan todos en un mismo paciente. La magnitud de la manifestación del hipotiroidismo, que es lento e insidioso, dependerá del grado de atrofia/degeneración glandular, así como del tiempo de evolución del trastorno. El gran desafío para el clínico es identificar manifestaciones sutiles de hipotiroidismo al punto de hacer un diagnóstico precoz y evitar que mayores morbilidades puedan surgir.

El animal hipotiroideo aumenta de peso, se observa inactivo, incoordinado, letárgico y con problemas para soportar el frío, busca siempre lugares calientes. También puede ser observada caída del pelo, en algunos casos con alopecia simétrica bilateral, alopecia de cola y del plano nasal, hiperqueratosis e hiperpigmentación, disminución de la frecuencia cardíaca, anemia y, en el hipotiroidismo crónico, mixedema. En este último caso se acumula mucina (mucopolisacáridos y ácido hialurónico) en la epidermis, la cual provoca edema y engrosamiento de la piel, más evidente en el rostro y la cabeza. Esta acumulación es resultado del desequilibrio entre la formación y degradación de estas sustancias debido a la falta de hormonas tiroideas (HT).

En el hipotiroidismo también se observa disminución de la libido y de la concentración espermática en los machos, mientras que en las hembras pueden ocurrir disturbios en los ciclos estrales, tales como anestro y aciclia, con disminución de la tasa de concepción. Los niveles plasmáticos de las HT pueden caer a menos de 8 ng/mL, en el caso de la T_4, y a menos de 0,5 ng/mL en el caso de la T_3 (valores de referencia: 15-30 y 1-2 ng/mL, respectivamente). El colesterol plasmático aumenta de forma significativa, a veces por encima de 500 mg/dL (referencia: 135-270 mg/dL). La hiperlipidemia que ocurre en el hipotiroidismo puede provocar aterosclerosis de los vasos coronarios y cerebrales, daños renales y hepatomegalia. También se observa enfermedad vascular periférica, sordera y muerte precoz.

La gran mayoría de los perros presentan una variedad de signos clínicos metabólicos y dermatológicos, pero no es raro que un perro presente solo un signo clínico de forma aislada. Los signos clínicos dermatológicos son los más comunes, están presentes en más del 80 % de los casos dependiendo del tiempo y el grado de evolución del trastorno. Las HT son fundamentales para el adecuado crecimiento y manutención de la piel y el pelaje, y en su ausencia una serie de anormalidades aparecen nítidas. Espesamiento y descamación de la piel, secundario a hiperqueratosis, son bastante comunes, así como piel y pelos secos. Perros con hipotiroidismo tienden a quedar permanentemente en la fase telógena del ciclo piloso, causando caída de pelo especialmente en áreas de mayor roce como la cara posterior de los muslos, axilas, cuello y laterales del tórax, lo cual evidencia un patrón de alopecia endocrina no pruriginosa. Las HT son necesarias para iniciar la fase anágena del ciclo folicular de los pelos. Algunos patrones de alopecia

a veces se hacen bastante evidentes, como la alopecia de la cola, también llamada 'cola de rata' y la alopecia dorsal de la nariz.

El prurito no es una característica de las lesiones cutáneas asociadas al hipotiroidismo, a menos que ocurra piodermatitis o malasseziosis. La respuesta al tratamiento de estas infecciones secundarias tiende a ser pequeño hasta que no se trate el hipotiroidismo, con lo cual muchos pacientes dermatópatas crónicos posteriormente se demuestra que son hipotiroideos. La 'cara trágica' es otra anormalidad asociada al hipotiroidismo canino, derivada del mixedema. Los pelos no afectados tienden a perder coloración y volverse más claros de lo normal (discromía). La seborrea es otra anormalidad observada en el 40 % de estos perros. La manifestación puede ser en forma oleosa o seca, que causa olor fuerte en el pelaje de los animales.

Los signos clínicos metabólicos son las alteraciones más relatadas en perros con hipotiroidismo (hasta en el 85 % de los casos) y comprenden letargo, debilitamiento, ganancia de peso e intolerancia a ejercicios como resultado de la reducción de la tasa metabólica. La ganancia de peso muchas veces es bastante discreta; no obstante, cerca del 40 % de los perros hipotiroideos presentan sobrepeso significativo u obesidad.

Los signos clínicos neuromusculares parecen tener relación con una menor actividad de la bomba sodio-potasio. La evaluación histológica evidencia degeneración axonal y desmielinización. Las neuropatías periféricas están asociadas a acumulación de mucina en las neuronas. En el repertorio de signos neuromusculares se pueden observar lesiones de neurona motor inferior (debilitamiento generalizado, alteraciones súbitas de marcha, paraparesia, tetraparesia, ataxia, dismetría, asociadas a propiocepción deficiente), enfermedad vestibular periférica, megaesófago y parálisis de laringe, miopatías y convulsiones.

La deficiencia de las HT perjudica la función del miocardio. Además, las HT favorecen la respuesta del corazón a las catecolaminas y estimulan la hipertrofia cardiaca. La presentación de hipotiroidismo está asociada a enfermedades cardiacas e induce a un empeoramiento de cardiopatías ya existentes, predisponiendo a fallas cardiacos. La cardiomiopatía dilatada está asociada al hipotiroidismo, con una reducida capacidad contráctil que puede mejorar con el tratamiento. El electrocardiograma de estos pacientes evidencia bradicardia sinusal, arritmias, y picos bajos con complejos QRS pequeños y ondas T invertidas, las cuales tienden a normalizarse con el tratamiento.

Las anormalidades reproductivas, anestro persistente, aumento del intervalo interestral, infertilidad, abortos, muertes prematuras de neonatos y bajo peso al nacer, son alteraciones comunes en las hembras. En los machos es común la pérdida de libido y reducción de la fertilidad. En cambio, en el caso de las hembras, el aumento de la TRH secundario a la baja en las HT puede estimular la secreción de prolactina y hacer que aparezca galactorrea fuera del diestro. Otros signos menos comunes pueden ser observados en el hipotiroidismo, como depósito de triglicéridos en la córnea y queratoconjuntivitis seca; también, problemas de comportamiento como agresividad, e hipercrecimiento bacteriano intestinal con diarrea crónica derivada de la menor motilidad intestinal.

Diagnóstico del hipotiroidismo

El diagnóstico definitivo de hipotiroidismo puede ser bastante frustrante y desafiador debido a una serie de interferencias en la evaluación de las mediciones hormonales; sin embargo, el diagnóstico es básicamente clínico, aplicándose las determinaciones bioquímicas y hormonales para la confirmación o exclusión de la sospecha clínica. Ninguna prueba endocrina es 100 % segura, aún más cuando se trata de HT, ya que enfermedades no tiroideas y muchas medicaciones por lo común utilizadas en medicina veterinaria tienen capacidad de provocar la reducción de estas hormonas en el plasma.

Un protocolo simple de las etapas básicas en la evaluación de un paciente sospechoso de hipotiroidismo puede seguir los siguientes pasos:

(a) Presencia de signos clínicos compatibles con hipotiroidismo.

(b) Verificación de tratamientos con drogas que puedan causar reducción en las HT, caso en el cual hay que esperar al término de estas medicaciones para la evaluación hormonal.

(c) Excluir enfermedades no tiroideas mediante exámenes complementarios y otras pruebas específicas necesarias.

(d) determinaciones de T_4 total y TSH. Si los resultados son confusos se puede medir la T_4 libre por diálisis o TgAA. En el caso de que aún no se llegue a establecer un diagnóstico se debe esperar y repetir las mediciones después de algunas semanas, o estudiar la posibilidad de un ensayo terapéutico.

Los exámenes rutinarios de patología clínica son importantes en la evaluación inicial de un paciente sospechoso por permitir una investigación inicial de enfermedades no tiroideas, así como la observación de anormalidades clásicas asociadas al estado hipotiroideo. La alteración más común asociada al hipotiroidismo es la hiperlipidemia, especialmente por hipercolesterolemia, alteración presente en hasta el 80% de los casos. La falta de hormonas tiroideas lleva a menor síntesis y degradación de lípidos, predisponiendo a la acumulación de colesterol y de triglicéridos en el plasma. La menor expresión del receptor de LDL frente a la reducción de las HT es otro factor que lleva a hipercolesterolemia. A pesar de que otras enfermedades no tiroideas también cursan con aumento del colesterol, elevaciones muy pronunciadas son predictivas de hipotiroidismo.

En la bioquímica sanguínea no existen otras alteraciones específicas en casos de hipotiroidismo, pero son importantes en la evaluación del paciente como un todo, buscando evidencias de enfermedades no tiroideas. Incrementos en la actividad sérica de las enzimas fosfatasa alcalina y γ-glutamil transferasa son observados en hasta el 30% de los casos, debido a la mayor deposición de grasa en el hígado y consiguiente lipidosis discreta; sin embargo, este es un hallazgo nada específico. La creatina quinasa (CK), enzima indicadora de lesión muscular, puede estar aumentada en hasta el 35% de los casos de hipotiroidismo debido a miopatías secundarias. La fructosamina fue propuesta como un indicador con hasta el 80% de sensibilidad para el diagnóstico de hipotiroidismo, ya que aumentos discretos en su concentración son causados por una reducción en la renovación de las proteínas y no debido a hiperglucemia. En perros con hipotiroidismo se observan valores próximos al límite superior de fructosamina (cerca de 300 µmol/L).

En la hematología, una anemia normocítica-normocrómica discreta puede ser observada en hasta el 50% de los casos de hipotiroidismo. Esta alteración es derivada del menor consumo de oxígeno por los tejidos, además de un menor estímulo para la eritropoyesis. Una anemia más intensa indica mayor tiempo de evolución del trastorno.

Evaluación específica de la glándula tiroides

La evaluación de la función de la glándula tiroides puede ser hecha a través de la medición sérica de las HT y de la TSH. Rutinariamente la T_4 total (libre más ligada a proteínas) y la TSH son utilizadas como pruebas iniciales. Puesto que cerca del 95% de los casos de hipotiroidismo en perros son primarios, la determinación de valores bajos de T_4 total (tT_4) y altos de TSH en un perro sospechoso puede ser suficiente para confirmar el diagnóstico de hipotiroidismo. Sin embargo, se pueden observar valores bajos de tT_4 con la administración de algunas drogas comunes en medicina veterinaria, así como en determinadas enfermedades no tiroideas (falsos positivos). De la misma manera, estas condiciones pueden afectar la TSH sanguínea, haciendo el proceso diagnóstico confuso. Cerca del 80% de los perros con hipotiroidismo primario tienen la TSH elevada. Esta sensibilidad ha mejorado después del desarrollo de un examen específico para TSH canina (cTSH). Si se aplica una prueba para TSH humana solo 60% de los casos muestran elevación de la TSH. Por otro lado, cerca del 10% de los perros hipotiroideos pueden presentar autoanticuerpos anti-T_4 que interfieren en los inmunoensayos y causan una falsa elevación de la hormona en la sangre (falso negativo). Muchas veces el diagnóstico solo puede ser confirmado después de la adecuada respuesta terapéutica del paciente.

Una segunda línea de exámenes de evaluación de la tiroides incluye la medición de la T_4 libre por diálisis (dfT_4), que es más sensible y mucho más específica para el diagnóstico de hipotiroidismo. La dfT_4 es menos afectada por enfermedades no tiroideas y por determinadas drogas, a pesar de que puede sufrir influencia de acuerdo con la medicación y gravedad del trastorno. Adicionalmente, en el proceso de diálisis, en el cual hay separación de la T_4 de las proteínas (un proceso que lleva de 24 a 48 horas en diálisis de equilibrio de temperatura), el paso del dializado por una membrana de filtración elimina la interferencia de autoanticuerpos en el inmunoensayo. Al solicitar medición de T_4 libre es fundamental verificar con el laboratorio si la técnica de determinación es para dfT_4. La mayoría de los laboratorios que miden la T_4, no

determinan la dfT_4, y la medición de T_4 libre por otros métodos presenta el mismo valor diagnóstico que la medición de tT_4, aunque con una sensibilidad menor.

También, es posible determinar la presencia de TgAA en el suero de pacientes con tiroiditis linfocítica y así evaluar la posible presencia de autoanticuerpos contra HT. No obstante, muchos animales con tiroiditis no presentan TgAA en el momento de la evaluación, de forma que la no identificación de estos no significa ausencia de tiroiditis. De cualquier forma, la detección de TgAA indica que un proceso patológico está en curso en la tiroides y, en un primer momento, el paciente puede estar presentando valores normales de HT, aunque con valores a veces elevados de TSH, en un intento del organismo por compensar una función de la tiroides que comienza a estar debilitada como resultado del ataque del sistema inmune a la glándula. Sin embargo, la disponibilidad de este test es un poco limitada. Frente al costo de la medición de tT_4 y TSH y a las potenciales fallas en el diagnóstico, puede ser más eficiente y eficaz determinar la dfT_4 como primera opción, ya que la diferenciación entre el origen primario o central del problema no cambia la conducta terapéutica.

Para diferenciar un caso de hipotiroidismo primario de uno secundario es útil realizar una prueba con TSH, administrando esta hormona y observando el efecto sobre la concentración de las HT. En el perro eutiroideo o normotiroideo y en el hipotiroidismo secundario el nivel de T_4 debe aumentar doblando su valor normal en ocho horas, mientras que en los animales con hipotiroidismo primario los niveles de T_4 no son afectados después de administrar la TSH.

Otras formas de diagnóstico también pueden ser utilizadas, a pesar de poco prácticas, confiables y usuales. Por ejemplo, las pruebas con administración de TRH seguida de la medición de TSH para evaluación del eje hipotálamo-hipófisis en casos de hipotiroidismo secundario, o la administración de TSH seguida de la medición posterior de HT han sido menos utilizadas hoy día por las dificultades y costos en obtención de TRH y TSH, así como el riesgo de choque anafiláctico. Además, la disponibilidad actual de test más fiables como TSH y dfT_4 ha hecho el diagnóstico de hipotiroidismo mucho más práctico. La T_3 en su forma libre (fT_3) o total (tT_3) también pueden ser determinadas en el suero, aunque ofrecen muy poca información sobre la función de la tiroides, ya que cerca del 75 % de la T_3 circulante no ha sido producida por la tiroides, sino que es producto de la deyodación periférica de la T_4.

Muchas veces no es posible llegar a un diagnóstico concluyente. Resultados antagónicos y limítrofes pueden dejar margen para interpretaciones erróneas. Un coeficiente de variación de hasta 20 % es aceptable para muchos ensayos hormonales, de forma que los valores cercanos a los puntos de corte deben ser evaluados con cuidado. También, algunos pacientes pueden presentar un cuadro típico de hipotiroidismo, pero el propietario de los animales no dispone de recursos para exámenes diagnósticos. En estos casos puede ser interesante utilizar un ensayo terapéutico con fines diagnósticos; para ello, se puede determinar un objetivo de mejora esperada frente al tratamiento, por ejemplo, un crecimiento piloso de por lo menos el 50 % en dos meses. A partir de allí, se inicia un tratamiento con reposición de tiroxina, siguiendo los mismos pasos del tratamiento. En caso de que no haya habido mejoría en los signos clínicos, el hipotiroidismo estaría descartado. Si la meta ha sido alcanzada, se recomienda suspender la medicación. Si los signos clínicos vuelven a empeorar o surgen de nuevo, el hipotiroidismo está en vías de confirmación. La nueva mejora en los síntomas confirma la deficiencia de HT, debiendo mantenerse el tratamiento.

Tratamiento del hipotiroidismo

Suele decirse que el hipotiroidismo es un trastorno metabólico de difícil diagnóstico, aunque de fácil tratamiento. El objetivo del tratamiento es resolver las anormalidades metabólicas y clínico-patológicas asociadas al hipotiroidismo. Una gran diversidad de productos que contienen HT están disponible en el mercado, pero solo algunos son aprobados por los órganos internacionales de salud para su uso en perros, como la levotiroxina. Productos con base en extractos de tiroides porcina/bovina, lo mismo que HT manipuladas, se deben evitar por tener una cantidad incierta y variable de HT en sus preparaciones, lo que se acaba reflejando en un tratamiento no adecuado. La administración de productos a base de T_3 no está indicada, siendo la mejor opción terapéutica la administración de T_4 (levotiroxina sódica), mimetizando la producción fisiológica de la glándula. En esta situación la administración de la T_4 sirve como una

prehormona que garantiza concentraciones adecuadas de T_3, biológicamente más activa en todos los tejidos del organismo, lo cual no ocurre cuando se usa T_3 en el tratamiento.

La frecuencia de la administración de HT una vez al día es suficiente para garantizar un excelente control hormonal. A pesar de no haber un ritmo circadiano bien definido de secreción de TSH y HT en perros saludables, se recomienda la administración de la droga por la mañana. Una recomendación importante es administrar la medicación en ayunas, aguardando cerca de 45 minutos el ofrecer alimentación al animal. Esto mejora la absorción del fármaco, que ya es pobre en el perro, al permitir un contacto más íntimo de la medicación con el epitelio intestinal. La administración, junto con la comida, puede retardar y perjudicar la absorción de la medicación. La dosis inicial del tratamiento es de 15-22 µg/kg una a dos veces al día de acuerdo con la respuesta de cada individuo. Las presentaciones (destinadas para uso humano) varían de 25 a 200 µg. De esta forma, un perro de 40 kg de peso necesita por lo menos cuatro comprimidos de 200 µg. Existe en muchos países tiroxina sintética para su uso en perros con presentaciones de 0,2 a 0,8 mg (200-800 µg).

Clínicamente es posible observar mejora clínica en las primeras semanas de tratamiento. La mejora en los parámetros laboratoriales puede ser observada después de un mes, a la vez que se observa una rápida reducción en los valores de colesterol y fructosamina. Las manifestaciones cutáneas tienden a normalizarse en tres meses, y un nuevo crecimiento piloso es evidente en el primer mes. Una pérdida de peso de por lo menos 10% es esperable en los primeros tres meses. Los signos neurológicos son los que más demoran en revertir, pueden demorar hasta seis meses.

El monitoreo del tratamiento se realiza mediante la medición de HT en el plasma, especialmente la tT_4, lo cual refleja bien si la administración está siendo adecuada y si la medicación está alcanzando un buen nivel plasmático. La medición debe ser hecha alrededor de cuatro a seis horas después de administrar la medicación. Algunos autores sugieren la determinación de tT_4 antes de administrarse la droga para verificar si la T_4 se está manteniendo estable durante todo el día, pudiendo sugerir la necesidad de usar la medicación dos veces al día.

La medición de TSH puede ser útil, ya que después de iniciarse el tratamiento ocurre la supresión de los valores de esta hormona. Sin embargo, no todos los perros hipotiroideos tienen TSH elevada y muchas veces un valor dentro de lo normal no significa que el animal esté bien controlado. Además, la inclusión de la TSH en el monitoreo vuelve más onerosa la evaluación.

Valores de tT_4 cuatro-seis horas después de administrarse la medicación entre 25 y 45 ng/mL, son indicativos de buena absorción y buen nivel en la circulación, asumiéndose que, si el paciente está respondiendo bien, el tratamiento es adecuado. Valores menores de 25 ng/mL pueden indicar necesidad de aumentar la dosis o la frecuencia de acuerdo a cada caso. De la misma manera, valores muy superiores a 50 ng/mL pueden indicar la necesidad de reducir la dosis o la frecuencia del tratamiento, a pesar de que los perros son relativamente resistentes a tirotoxicosis, la cual está caracterizada por polifagia, poliuria, polidipsia, vómitos, diarrea, agitación, jadeo, nerviosismo, hipertermia y taquicardia. Hay relatos indicando que la dosis en el perro precisaría ser veinte veces mayor que la terapéutica para provocar estos síntomas. La tirotoxicosis, si se presenta, revierte después de algunos días de retirada la medicación. La dosis eficaz de levotiroxina es bastante particular y pueden ser necesarios ajustes para cada paciente, a partir de la dosis inicialmente prescrita. El pronóstico es excelente, no siendo posible diferenciar animales saludables de pacientes hipotiroideos bien controlados.

Hipertiroidismo

El hipertiroidismo es uno de los trastornos endocrinos más comunes de los felinos, y es rara su presentación en la especie canina. Este desorden es caracterizado como una enfermedad multisistémica crónica derivada de una concentración elevada de HT en la circulación. La primera descripción de este disturbio en felinos fue hecha en 1979, y desde entonces ha sido más común en las rutinas clínicas; no obstante, a pesar de que su etiología es debida a una hiperplasia adenomatosa de la glándula tiroides, la mayor incidencia del trastorno podría explicarse por la exposición a factores de riesgo ambientales o por aumento de la población felina, asociado al mayor cuidado de los propietarios y al mayor conocimiento de la enfermedad por los clínicos. Actualmente la prevalencia de hipertiroidismo en

gatos varía de 0,5 % hasta 12 % en poblaciones con más de 10 años.

Etiología del hipertiroidismo

El hipertiroidismo está asociado con hiperplasia multinodular, adenomas o adenocarcinomas derivados de las células foliculares que provocan niveles de HT muy elevados en la sangre, pudiendo llegar hasta 500 ng/mL de T_4 y 10 ng/mL de T_3 (referencia en felinos: 15-30 y 0,3-0,9 ng/mL, respectivamente). La gran mayoría de los felinos afectados por este trastorno (65 % - 70 %) presenta hiperplasia adenomatosa bilateral, mientras que la hiperplasia unilateral puede ser observada en hasta el 30 % de los casos. La presentación de carcinomas tiroideos es rara, aproximadamente solo el 2 % del total de casos de hipertiroidismo tiene este origen. Sin embargo, tejido adenomatoso y carcinoma pueden ser identificados en una misma glándula y el concepto actual preconiza que el proceso es progresivo, empezando con la hiperplasia adenomatosa, pasando a adenoma y después a carcinoma. La estimulación prolongada de la glándula endocrina y de sus células secretoras predispone a tumores por clones de células que crecen más rápido que el resto y son más susceptibles a transformación neoplásica. La glándula tiroides alcanza un tamaño dos o tres veces superior al normal, con hiperplasia de las células foliculares y aumento en la velocidad de secreción de cinco a quince veces.

Diversos estudios epidemiológicos retrospectivos intentaron evidenciar factores de riesgo al desarrollo de hipertiroidismo felino. El factor más importante identificado fue el uso de una ración comercial en lata como fuente exclusiva o principal de alimentación, especialmente las raciones a base de pescado, hígado y vísceras de aves, las cuales presentarían mayores concentraciones de yodo. También fueron implicados como factores de riesgo el forro plástico en las latas, y aquellas de apertura fácil, donde hay mucho bisfenol, un conocido disruptor endocrino. Además, fueron descritos otros factores bociógenos, como una reducida ingestión de selenio (importante en la regulación de la tiroides), isoflavonas de soja, genisteína y daidzen (otras isoflavonas procedentes de la soja), constituyentes comunes en las dietas comerciales. A pesar de estos factores, el papel exacto de estas sustancias aún no ha sido bien comprendido. Los polifenilbromados (PBDE) compuestos antiincendio presentes en el polvo ambiental originado por estofados y tejidos son otro contaminante global conocidamente asociado al hipertiroidismo en felinos y humanos.

Las concentraciones de TSH circulantes son inferiores a lo normal, pueden incluso ser nulas. Existen sustancias semejantes a la TSH, anticuerpos de inmunoglobulina, que se ligan a los mismos receptores de membrana que fijan la TSH. Estas sustancias inducen la activación continua de AMPc y, así, inducen también a hipertiroidismo. Estos anticuerpos se desarrollan en función de la autoinmunidad contra el tejido de la glándula tiroidea, conocida como enfermedad de Graves en humanos, pero lo mismo no fue documentado en gatos.

La presentación del trastorno afecta felinos con más de 10 años de edad, a pesar de haber casos reportados en gatos jóvenes. La edad promedio de presentación es de 12 años. No hay una predisposición racial al desarrollo del trastorno, pese a que gatos de razas Siamés e Himalaya han sido identificados con menor predisposición al disturbio. Asimismo, estudios epidemiológicos no han evidenciado predisposición sexual.

Signos clínicos del hipertiroidismo

La alteración física más evidente en gatos hipertiroideos (95 % de los casos) es el aumento de volumen de la tiroides hasta llegar al punto en que la glándula es palpable, lo que normalmente no es posible. La palpación de tiroides aumentada no indica hipertiroidismo, pues no necesariamente el aumento de volumen está asociado a excesiva secreción de HT, puede tratarse de hiperplasia de la paratiroides o estados precoces de la enfermedad. La palpación de la tiroides debe ser concomitante con elevados valores de T_4 plasmática.

Lo que más preocupa a los dueños es el hecho de adelgazar el gato demasiado a pesar del apetito voraz secundario a la estimulación metabólica de la tirotoxicosis. Otros signos clínicos son polidipsia, poliuria, aumento de la frecuencia de defecación y del volumen de las heces, mayor actividad física e inquietud, así como intolerancia al calor, presentando jadeo y taquicardia. Hay debilitamiento muscular y fatiga extrema, con presentación de temblores.

Algunos signos clínicos de cambio de comportamiento se hacen evidentes, como hiperactividad, nerviosismo, insomnio y agresividad. A veces la expresión facial del paciente demuestra un estado de

alerta (‘cara de loco’). Poliuria y polidipsia ocurren en hasta el 70% de los casos debido a diversos factores asociados, como perturbación de la secreción de ADH por las HT, *washout* medular (menor concentración de solutos en la médula renal), polidipsia primaria asociada a disturbios hipotalámicos causados por las HT, aumento de la tasa de filtración glomerular y coexistencia de disfunciones renales primarias en muchos casos.

La alopecia tiende a ser más observada en gatos de pelo largo debido a la intolerancia al calor y lleva muchas veces a alopecia bilateral simétrica mimetizando la alopecia psicogénica felina, mientras que gatos de pelo corto tienden a presentar un pelaje feo y enmarañado. Signos gastrointestinales pueden estar presente en hasta el 50% de los casos y se caracterizan por vómitos ocasionales o intermitentes (secundarios a hipermotilidad y efecto directo de las HT sobre el centro del vómito), regurgitación y diarrea o aumento del volumen y frecuencia de las deposiciones por la mayor velocidad de flujo intestinal e ingestión de alimentos.

Las HT presentan efectos cronotrópicos e inotrópicos positivos sobre el miocardio, además de interactuar con el sistema nervioso autónomo, llevando a mayor activación simpática. El resultado es la presentación de taquicardia (frecuencia mayor de doscientos cincuenta latidos por minuto) en hasta el 60% de los casos, choque precordial más fuerte, ruidos cardiacos, arritmias e hipertensión. Muchas veces estas alteraciones sobre la actividad del miocardio acaban resultando en cardiomiopatía hipertrófica (CMH) que tiene origen hereditario en gatos. Como consecuencia de este desarreglo, algunos animales pueden desarrollar insuficiencia cardiaca congestiva con alteraciones asociadas como soplo, ritmo de galope, edema pulmonar (tos, disnea, disminución de los sonidos cardiacos), derrame pleural, tromboembolismo aórtico o ascitis. Con relación a estos últimos signos clínicos, hay que tener también en cuenta los trastornos que provocan el síndrome de tromboembolismo. La cardiomiopatía tirotóxica es reversible, pero algunos animales pueden no responder de esta forma y empeorar después del tratamiento.

Diagnóstico del hipertiroidismo

Es sencillo el diagnóstico del hipertiroidismo, ya que la detección de valores elevados de HT en un animal sospechoso confirma la afección. No obstante, por ser fundamental la investigación de otras morbilidades asociadas, es recomendada la realización de exámenes laboratoriales de rutina, así como emplear técnicas de diagnóstico por imagen. En general, exámenes de imágenes no son necesarios para el diagnóstico de hipertiroidismo, pero son indicadas radiografías torácicas frente a disnea, taquipnea o disminución de sonidos cardiacos cuando puede observarse cardiomegalia y eventual derrame pleural asociado. Una ecocardiografía puede señalar hipertrofia ventricular izquierda en hasta el 70% de los casos, así como dilatación atrial izquierda (70% de los casos) e hipertrofia de septo interventricular en hasta el 40% de los casos. Las alteraciones más frecuentes en el electrocardiograma son taquicardia sinusal y aumento del ventrículo izquierdo.

Debido al mayor consumo de oxígeno y mayor tasa de eritropoyesis estimulada por las HT y activación beta-adrenérgica de la médula, se puede observar aumento del hematocrito y del volumen corpuscular medio, eritrocitosis, macrocitosis, y más concentración de hemoglobina. La presentación de un leucograma de estrés (neutrofilia, eosinopenia y linfopenia) es un hallazgo común y esperado.

En la bioquímica sérica el principal hallazgo es la elevación de la actividad sérica de una o más enzimas hepáticas, especialmente la ALT, en cerca del 70% de los casos, aunque también se puede observar incremento en la actividad de las enzimas AST, FA y LDH. Las alteraciones hepáticas que llevan a estas elevaciones están asociadas a mala nutrición, insuficiencia cardiaca congestiva, hipoxia hepática y efectos tóxicos de las HT sobre el hígado. Cerca del 20% de los casos pueden presentar hiperglucemia moderada asociada al estrés. La fructosamina tiende a estar reducida debido al mayor *turnover* de proteínas plasmáticas, por lo cual se debe tener cuidado al evaluar la fructosamina en el control de felinos diabéticos hipertiroideos.

Cerca del 30% de los casos pueden presentar elevación de urea y creatinina debida al mayor catabolismo proteico e hipertensión. El fósforo puede estar elevado en hasta el 30% de los casos, pero no asociado a azotemia, sino indicando perturbaciones en el metabolismo de los huesos que tienden a osteogenia frente a la excesiva concentración de HT, a pesar de no haber mayores alteraciones en el calcio plasmático.

El urianálisis evidencia una densidad baja, entre 1,015 y 1,025, debido a la poliuria típica del trastorno, sin estar necesariamente asociada a disfunción renal primaria. Sin embargo, el efecto de las HT en reducir la musculatura y aumentar la tasa de filtración glomerular provoca una aparente reducción de la creatinina sérica, enmascarando el verdadero estado de una enfermedad renal crónica del paciente.

El diagnóstico del hipertiroidismo comprende, además de los signos clínicos, la medición de T_3 y T_4 total o libre en el plasma. La concentración plasmática de TSH debe estar baja. La determinación de la concentración sérica de tiroxina total (tT_4) requiere ser suficiente para confirmar el diagnóstico, siendo considerado el primer test específico a ser realizado frente a una sospecha de hipertiroidismo. Sin embargo, si hay signos clínicos compatibles, aunque con valores de tT_4 normales, se pueden medir nuevamente en cuatro semanas, pues es común la fluctuación de la concentración de T_4 en animales hipertiroideos, además de que la presencia de enfermedades no tiroideas puede causar reducción en la concentración sérica de T_4 a valores dentro del rango de normalidad.

Se asume que la medición de dfT_4 es aún más sensible para el diagnóstico de hipertiroidismo, estando elevado en hasta el 98% de los casos, aunque es menos específica. La determinación de la T_3 sérica puede ser útil en el proceso diagnóstico, si bien pueden encontrarse valores normales de T_3 en gatos hipertiroideos, debiendo asumir la tT_4 como primera opción.

Testes de estimulación con TRH o TSH no son de uso rutinario. Sin embargo, en algunos casos sospechosos puede ser necesario realizar un test de supresión con T_3. La aplicación de este test debe ser reservada a casos sospechosos donde los valores de tT_4 o de dfT_4 no fueron concluyentes y permanecieron próximos a los valores máximos considerados normales. La administración de T_3 en un animal saludable o con una enfermedad no tiroidea provoca reducción en la concentración de T_4, ya que la T_3 promueve un *feedback* negativo en el hipotálamo sobre la secreción de TRH y TSH, lo que no ocurre en gatos hipertiroideos.

El protocolo del test recomienda la recogida de una muestra de sangre para mediciones de tT_4 y tT_3, pasándose posteriormente a administrar la dosis de 25 µg de triyodotironina sintética por vía oral, cada ocho horas durante tres días consecutivos, recogiéndose nueva muestra de sangre cerca de dos a cuatro horas después de la última administración de T_3 para mediciones de tT_4 y tT_3. Una respuesta normal es la tT_4 suprimida (menor que 15 ng/mL) (valor de referencia en gatos: 15-30 ng/mL) tres días después de administración de T_3, la tT_3 debe estar aumentada (comprobando que la droga fue administrada correctamente). Animales hipertiroideos permanecen con valores de tT_4 elevados luego de la administración secuencial de T_3, sin observar la supresión de la T_4 basal.

Tratamiento del hipertiroidismo

El tratamiento del hipertiroidismo busca controlar los efectos de la hiperfunción glandular por medio de abordajes como el retiro de la glándula, la destrucción del tejido glandular, la inhibición farmacológica de la síntesis y liberación de las HT, o la mejora de los efectos de las HT en exceso en los tejidos periféricos.

Existe una modalidad terapéutica que es el tratamiento con yodo radiactivo (I^{131}), el cual es considerado de elección cuando está disponible y es financieramente viable. El objetivo es destruir el tejido tiroideo hiperactivo. La glándula hiperfuncional capta el yodo radiactivo, y la radiación gamma destruye el tejido tiroideo, llevando al control del trastorno en la gran mayoría de los casos. Complicaciones como hipotiroidismo son relativamente raras (2% de los animales sometidos al tratamiento).

La enfermedad se cura en más de 90% de los casos con una sola inyección de cerca de 2 mCi del isótopo 131 del yodo (I^{131}). Otras opciones terapéuticas incluyen el tratamiento médico, quirúrgico o dietético. La **Tabla 7.7** presenta las principales ventajas y desventajas del tratamiento quirúrgico o médico. De forma general, antes de escoger qué tratamiento será usado es necesario considerar algunos factores prácticos y médicos, como son la severidad de la tirotoxicosis, la presencia de otras enfermedades, la edad del paciente y potenciales complicaciones, además del costo.

El tratamiento médico más disponible y recomendable para el hipertiroidismo es el metimazol. Este fármaco tiene la capacidad de inhibir la síntesis de las HT sin inhibir la captación de yodo por la glándula o la liberación de HT ya formadas. El objetivo de la administración del metimazol u otras drogas antitiroideas

es reducir la concentración de las HT a valores de referencia. Estas drogas tienen el efecto de inhibir la incorporación del yodo en las moléculas de tiroglobulina, impidiendo de esta forma la síntesis adecuada de las HT. El tratamiento médico tiene una serie de ventajas por no necesitar de hospitalización, anestesia en un paciente metabólicamente descompensado, ni causar las complicaciones potenciales de la tiroidectomía, a pesar de no ser un tratamiento curativo. El metimazol es administrado en dosis de 2,5 a 5 mg/día, preferiblemente divididos en dos dosis diarias para garantizar mejores resultados.

En el tratamiento con metimazol puede haber efectos adversos como anorexia, vómito, diarrea, agranulocitosis, anemia hemolítica, trombocitopenia, hepatotoxicidad y/o prurito facial. Los efectos colaterales hematológicos pueden predisponer a sepsis y hemorragias. Si la dosis es excesiva se puede interrumpir el tratamiento cerca de cuatro días antes de retomar con dosis menores, en caso de efectos colaterales gastrointestinales. Frente a efectos colaterales hematológicos, hepáticos o dermatológicos está contraindicada la continuidad de la administración de metimazol. Una preocupante consecuencia de cualquier tratamiento para el hipertiroidismo es el perjuicio en el funcionamiento renal debido a la reducción en la tasa de filtración glomerular y menor flujo sanguíneo renal secundario a la reducción en el débito cardiaco por disminución en la concentración de las HT. Para monitorizar el tratamiento y controlar la presentación de estos efectos adversos potenciales se recomienda la reevaluación del paciente cada dos semanas en los primeros tres meses, con evaluación del hemograma a fin de detectar alteraciones hematológicas. La función renal y la medición de tT_4 debe ser hecha también cada dos semanas hasta que se alcancen valores de T_4 dentro de la normalidad. Ajustes en la dosis del metimazol pueden ser hechos de acuerdo con la respuesta del paciente. Pacientes que desarrollen azotemia pueden tener la dosis de metimazol ajustada para mantener los valores de T_4 levemente elevados. A largo plazo un paciente bien controlado necesita revisiones semestrales con medición de HT para verificar la evolución del tratamiento y permitir otros ajustes. Sin embargo, es mejor tratar el gato hipertiroideo con enfermedad renal crónica para reducir la velocidad de progresión de la enfermedad renal, toda vez que el estado hipertiroideo lleva a daño progresivo de los riñones.

El inconveniente de aplicar drogas antitiroideas en el tratamiento de felinos con hipertiroidismo es la necesidad del uso continuo de la medicación. A pesar de que el metimazol es la principal droga disponible en el mercado, otras opciones pueden ser aplicables, como el propiltiuracil (no muy recomendado debido a los fuertes efectos colaterales) o el carbimazol (que es metabolizado a metimazol). Tratamientos médicos alternativos ya fueron propuestos, como por ejemplo el uso del ácido iopanoico, que administrado en la dosis de 50 mg dos veces al día inhibe la conversión de T_4 a T_3. No se observan efectos colaterales, aunque muchos gatos se vuelven refractarios a la droga con el tiempo. Otra posibilidad terapéutica es la inyección percutánea de etanol directamente en la glándula tiroides, ya que el etanol estimula la coagulación necrótica y lisis tecidual. La administración ecoguiada de etanol al 96% directamente dentro de la glándula requiere anestesiar al paciente. Una complicación

Tabla 7.7 Ventajas y desventajas del tratamiento médico y quirúrgico para el hipertiroidismo felino

Factor	Tratamiento quirúrgico	Tratamiento médico
Recurrencia del hipertiroidismo	Posible si no es empleada la técnica adecuada	Común dependiendo del compromiso del dueño
Tiempo para alcanzar eutiroidismo	Dependiente del tratamiento anterior	De tres a quince días
Hospitalización	De uno a diez días dependiendo de las complicaciones posoperatorias	No es necesaria
Efectos secundarios	Hipoparatiroidismo, parálisis del nervio laríngeo recurrente	Anorexia, vómito, diarrea, inhibición de la médula ósea, hepatotoxicidad
Costo	Intermedio	Significativo a largo plazo

potencial del uso de etanol percutáneo es la parálisis faríngea, que puede ser transitoria o permanente. En caso de que la parálisis sea bilateral, puede ser fatal.

Drogas como propranolol y atenolol son útiles en el control de la taquicardia, taquipnea, hipertensión e hiperexcitabilidad asociadas al hipertiroidismo. A pesar de no haber un efecto directo de estos bloqueadores adrenérgicos sobre la síntesis de las HT, el propranolol puede inhibir la conversión periférica de la T_4 a T_3. Estas drogas pueden ser usadas en el tratamiento o estabilización inicial del paciente. No obstante, el propranolol estaría contraindicado en pacientes con historia de asma o insuficiencia cardiaca congestiva por ser un bloqueador beta-adrenérgico no selectivo. De esta forma, se prefiere usar el atenolol, un agente bloqueador selectivo β_1-adrenérgico.

La tiroidectomía quirúrgica es el tratamiento de elección en la mayoría de los gatos con hipertiroidismo. Muchas veces consiste en el único tratamiento curativo disponible ante la ausencia de centros para radioterapia animal. La tiroidectomía puede ser realizada con baja incidencia de complicaciones, siendo considerado un procedimiento rápido, simple, curativo y de medio costo. Existen diversas técnicas quirúrgicas para la tiroidectomía (intracapsular y extracapsular). La técnica intracapsular es mejor para preservar las paratiroides a pesar de haber la posibilidad de dejar resquicios de tejido hiperplásico, mientras que la técnica extracapsular es más efectiva en el control del hipertiroidismo, no obstante estar frecuentemente más asociada a la retirada o lesión accidental de la paratiroides.

Una alternativa para evitar las complicaciones del tratamiento quirúrgico de gatos que precisan ser tiroidectomizados bilateralmente es la tiroidectomía en etapas con reimplante de las paratiroides. Primero se retira la tiroides de uno de los lados y se espera de tres a cuatro semanas para realizar la tiroidectomía en el lado opuesto. Ese período permite el restablecimiento del riego sanguíneo de la paratiroides, traumatizada durante la tiroidectomía. Otra alternativa es la escisión de la paratiroides de la glándula tiroides y su posterior reimplantación en el músculo esternoideo, puesto que la paratiroides es capaz de sobrevivir y recomponerse en un tejido alejado de la tiroides, mostrándose funcional a las dos semanas del trasplante. Las concentraciones de T_4 tienden a quedar debajo del límite de referencia después de la tiroidectomía bilateral durante semanas o meses, pero se elevan al rango de referencia luego de períodos variables de tiempo. No hay necesidad de suplementación de tiroxina, pues difícilmente tiene lugar hipotiroidismo permanente. Sin embargo, algunos autores recomiendan el uso de 100 µg de tiroxina cuatro veces al día durante dos meses después de la tiroidectomía bilateral. Tal vez la complicación más común tras la tiroidectomía es la recurrencia del hipertiroidismo, ya sea por hiperfuncionamiento de la glándula no removida, o por causa de tejido tiroideo ectópico. El uso de tecnologías como captación de radioisótopos puede ser útil en la identificación de estos tejidos. En casos de recurrencia postiroidectomía bilateral se debe emplear una nueva modalidad terapéutica. Además, todos los tratamientos para el hipertiroidismo felino pueden llevar a desmejorar la función renal y en estos casos la administración de tiroxina debe ser considerada, en caso de que ocurra insuficiencia renal azotémica.

7.15 Trastornos de hormonas del tejido adiposo

El tejido adiposo está distribuido por todo el organismo y dividido en depósitos sin conexión física entre sí, siendo la actividad secretora regulada por mecanismos hormonales no totalmente dilucidados. La mayoría de las adipocitocinas no son producidas solo en el tejido adiposo, lo que hace difícil la determinación del papel de este tejido en la concentración sérica de esas sustancias. La función endocrina del tejido adiposo se hace más evidente a través de la producción o regulación anormal que las adipocitocinas tienen ante la obesidad. En humanos, caballos, perros, gatos, y en roedores obesos, la falta de regulación de estas adipocinas está implicada en la presentación de una serie de comorbilidades asociadas a la obesidad, como el síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2, aterosclerosis, enfermedades cardiacas e incluso cáncer. La gran mayoría de las adipocitocinas cuando se encuentran en exceso presentan efectos deletéreos al organismo, estando la obesidad asociada a la mayor expresión y secreción de dichas sustancias. Últimamente se ha estudiado a estas moléculas como marcadores del riesgo de complicaciones asociadas a la obesidad; sin embargo, los estudios sobre estas sustancias en perros y gatos avanzan despacio.

Las adipocinas con función inmunológica son la interleucina 6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral

alfa (TNF-α) y los factores de complemento B, C3 y D (adipsina). Estas proteínas son producidas por los adipocitos frente a estados inflamatorios o infecciosos y también presentan efectos locales. Se considera que la obesidad está asociada a un proceso inflamatorio crónico. El TNF-α, además de sus funciones inmunológicas proinflamatorias, presenta la capacidad de disminuir la sensibilidad a la insulina por reducir la expresión y translocación de GLUT-4 en la membrana celular, así como de perjudicar la fosforilación del receptor de insulina y de algunos sustratos intracelulares. Adicionalmente, el TNF-α está asociado a la menor diferenciación de preadipocitos y estímulo a la apoptosis y a la lipólisis. El TNF-α está aumentado en la obesidad y reduce sus concentraciones después de la pérdida de peso, por lo cual se cree que sus efectos sean más autocrinos y paracrinos.

La IL-6 es otra citocina proinflamatoria producida especialmente por la grasa visceral; presenta efectos metabólicos como inhibición de la lipasa lipoproteica y estímulo a la lipólisis. Sus niveles están aumentados en la obesidad y se reducen con el adelgazamiento, puede ser usada como marcador de resistencia a la insulina. En humanos hay una fuerte asociación entre la obesidad y el riesgo cardiovascular, dependiente sobre todo de la grasa visceral, apreciándose reducción del riesgo asociada a la pérdida de peso, acompañado de reducción en la presión arterial, lipoproteínas LDL y colesterol total. Respecto de las adipocinas con función cardiovascular se observa que el tejido adiposo presenta todos los componentes del eje renina-angiotensina. La angiotensina II induce la diferenciación de los preadipocitos y lipogénesis en los adipocitos. Además, se demostró que el tejido adiposo puede secretar angiotensinógeno de acuerdo con el estado nutricional y que la aldosterona puede promover insulinorresistencia. Otra adipocina relacionada con efectos cardiovasculares es el PAI-1 (inhibidor de la activación del plasminógeno-1), una proteína antifibrinolítica producida por el hígado y el tejido adiposo. En la obesidad el tejido adiposo secreta gran cantidad de PAI-1, lo que está asociado a infarto agudo del miocardio y trombosis venosa. Esta molécula es promotora de la aterogénesis por la mayor deposición de fibrina y plaquetas en el ateroma en formación. No es común la aterosclerosis en animales, salvo condiciones raras asociadas a hipotiroidismo o hiperadrenocorticismo. Esto acontece porque la principal lipoproteína del perro, por ejemplo, es la HDL, que tiene efectos protectores. Trastornos como hipotiroidismo y síndrome de Cushing causan reducción de los niveles de HDL, con aumento concomitante de LDL. En el caso concreto del síndrome de Cushing esta puede ser una de las posibles explicaciones para el alto riesgo de tromboembolismo, una vez que la secreción de PAI-1 es estimulada por corticoides, además de ser la grasa visceral la principal fuente de PAI-1 en la obesidad.

Diversas adipocinas presentan efectos metabólicos regulando el metabolismo lipídico. Normalmente el tejido adiposo recibe nutrientes durante el período posprandial y libera nutrientes a los tejidos periféricos en períodos de ayuno. Sin embargo, este flujo se encuentra alterado en la obesidad porque existe una compleja red de comunicación entre los tejidos insulinosensibles, y cada vez más evidencias indican que el tejido adiposo podría ser el principal regulador metabólico de esos tejidos. En este grupo de adipocinas con efectos metabólicos se pueden citar también los ácidos grasos libres (AGL), la adiponectina, la resistina, el péptido relacionado al agouti (AGRP) y la visfatina. Los AGL pueden tener origen en la dieta, el hígado, o en la degradación de los triglicéridos. Diversas evidencias señalan que hay efecto deletéreo de los AGL sobre la sensibilidad y acción de la insulina, ya que inhiben la secreción de insulina por las células beta-pancreáticas, pudiendo incluso estimular vías de apoptosis celular.

La adiponectina es una proteína expresada por los adipocitos y su producción depende del estado nutricional; es la única adipocitocina que reduce su concentración frente a la obesidad y, también, la única adipocitocina descrita con efectos beneficiosos, pues presenta efectos antiaterogénicos, además de potenciar la acción de la insulina en el control del metabolismo lipídico y glucídico. En el hígado la adiponectina tiene un efecto semejante al de la insulina al estimular la oxidación de las grasas e inhibir la producción de glucosa hepática. Asimismo, el tejido muscular oxida más grasas en respuesta a la adiponectina. Otro papel importante de esta adipocina es su efecto inhibidor sobre la expresión y acción del TNF-α, desempeñando así un papel antiinflamatorio, pues la adiponectina también reduce la producción de IL-6. Este efecto antiinflamatorio es reforzado porque la adiponectina antagoniza la IL-1 e induce la expresión de IL-10, una citocina antiinflamatoria. Hoy día la adiponectina

es muy estudiada, buscándose aplicaciones prácticas de su medición en el plasma, así como su aplicación terapéutica. La administración de adiponectina puede promover reversión de la resistencia a insulina en situaciones como la obesidad. Uno de los efectos atribuidos a las tiazolidinedionas (TZD) es promover la elevación de la adiponectina en el plasma. Las TZD pueden ser utilizadas en el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, siendo la elevación de la adiponectina uno de sus efectos farmacológicos. En perros se demostró correlación inversa entre leptinemia y adiponectinemia, quedando claro el papel de la adiponectina con el metabolismo lipídico. En perros y gatos con síndrome metabólico (también llamado de disturbios metabólicos relacionados a obesidad y caracterizada por hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperglucemia, hiperinsulinemia o hipertensión arterial asociadas a la obesidad) se ha demostrado que la reducción de la adiponectina es el principal indicador de disturbios metabólicos secundarios a la obesidad, así como fue demostrado en humanos y en otros modelos animales.

La resistina es una citocina expresada principalmente por células sanguíneas mononucleares (monocitos y macrófagos), aunque también se expresa en cantidades menores en el tejido adiposo. Presenta efecto inhibitorio sobre la diferenciación de los adipocitos y parece desempeñar un papel en la inducción de la resistencia a la insulina presente en la inflamación. A pesar de esto, no se ha podido demostrar que tenga algún efecto sobre la captación de glucosa en los adipocitos.

El AGRP, una proteína expresada en tejido adiposo subcutáneo y visceral, puede determinar el peso corporal del individuo al antagonizar el efecto de la hormona estimulante de los α-melanocitos (α-MSH) en el hipotálamo, afectando así el apetito y el metabolismo. La visfatina es una proteína expresada por el tejido adiposo visceral y presenta un efecto semejante a la insulina al unir y activar el receptor de insulina.

A pesar de los efectos endocrinos de las adipocinas citadas, ninguna de estas proteínas presenta un eje tan bien descrito y consolidado como la leptina, una hormona descrita en los años 1990. El nombre 'leptina' tiene su origen en la palabra griega *leptos*, que significa 'flaco'. El origen de esta nomenclatura fue la descripción de ratones deficientes en leptina asociado a obesidad mórbida. Rápidamente la industria farmacéutica consideró que estaría resuelta la pandemia de obesidad que hoy asola los sistemas de salud, una vez la administración de leptina a esos ratones previno la obesidad y estimuló la pérdida de peso.

Sin embargo, varios estudios mostraron que la leptina es una proteína expresada casi exclusivamente por el tejido adiposo en respuesta a alteraciones celulares secundarias al efecto de la insulina, actuando como indicador del estado nutricional. Existe correlación directa entre la masa adiposa y la concentración de leptina en la sangre, es decir que, cuanto más obeso sea el individuo, mayor será la concentración de leptina. De esta forma, es evidente que la deficiencia de leptina no es la causa de la obesidad, una vez que pacientes obesos presentan hiperleptinemia, salvo en síndromes genéticos asociados a deficiencia primaria parcial o absoluta de leptina.

La leptina actúa sobre diversos tejidos influenciando numerosos procesos metabólicos, como la fertilidad y el sistema inmune, además de regular los depósitos de grasa. Uno de los blancos de la leptina es el hipotálamo, donde la unión de la insulina a su receptor informa sobre la cantidad de depósitos de grasa. Esta información referente a la cantidad de tejido adiposo puede activar las vías anorexígenas (inhibidoras del apetito) y de gasto energético, o sea que una elevación en los niveles de leptina sirve como una señal para el hipotálamo, informando que existen reservas adecuadas de energía, debe cesar la ingestión de alimentos y estimular el gasto energético.

La cuestión del control del apetito es cumplida por la liberación, estimulada por la leptina, de neuropéptidos anorexígenos como la CRH, α-MSH y el CART (transcrito relacionado con cocaína y anfetamina). Además, la leptina inhibe la síntesis y liberación de neuropéptidos oroxígenos (estimuladores del apetito) como el AGRP y el neuropéptido Y (NPY). El estímulo al gasto energético es mediado por la liberación de TRH, activando el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, con la T_3 activando procesos metabólicos en tejidos periféricos. De esta forma es indudable que la obesidad está asociada muchas veces a la resistencia central a insulina debido al menor transporte de leptina para el SNC y la menor activación del receptor de leptina en el hipotálamo. Ya fue demostrado que la leptina cumple un papel central en la fertilidad, influenciando la liberación

de GnRH y consecuentemente de LH y FSH. Así, la leptina sirve como indicador del estado nutricional para la actividad reproductiva, siendo fundamental para el desarrollo de la pubertad y es retomada de la actividad sexual después de períodos de anestro.

Además de estos efectos, la leptina tiene acción inmunorreguladora con efectos proinflamatorios y moduladores del sistema inmune. Periféricamente, una de las acciones más importantes estimuladas por la leptina es la inhibición de la síntesis y secreción de la insulina. Así, existe un eje hormonal llamado adipoinsular, pues la insulina estimula la síntesis de leptina y la leptina contrarregula a la insulina. Mutaciones en el gen de la leptina o en su receptor, así como ciertos polimorfismos, pueden estar asociados a la obesidad polifágica e infertilidad.

Varios estudios evidenciaron mayores concentraciones de leptina en perros con hipotiroidismo, así como en la endotoxemia, situaciones asociadas a la mayor liberación de hormonas de estrés, mediadores proinflamatorios y marcadores de daños renales y hepáticos. El mecanismo de resistencia a la leptina está asociado al menor transporte de leptina por la barrera hematoencefálica. A pesar de que en humanos hay más tendencia a valores de leptinemia en mujeres por la mayor adiposidad fisiológica, estudios no demostraron diferencias significativas en la leptinemia de perros con relación a edad, sexo y raza. Aunque la leptina es la clásica hormona asociada al tejido adiposo como tejido endocrino, este tejido presenta la capacidad de realizar interconversión de hormonas esteroides. Además de ocurrir conversión de cortisona a cortisol, en el tejido adiposo también puede ocurrir interconversión de hormonas sexuales. Tanto la vía que cataliza la conversión de androstenediona en testosterona puede estar más activa en la obesidad femenina, como la vía que cataliza la conversión de androstenediona y de testosterona en estrona y estradiol respectivamente, pueden estar más activas en individuos obesos del sexo masculino. El resultado es una posible masculinización de hembras obesas y feminización de machos obesos.

En perros y gatos la obesidad está asociada a hiperleptinemia y, después del adelgazamiento, la concentración de leptina vuelve a los valores iniciales. Además, las hembras tienen valores de leptina mayores que los machos.

7.16 Disturbios relacionados con las hormonas sexuales

En los disturbios relacionados con las hormonas sexuales en perros se pueden observar diversas alteraciones, especialmente dermatológicas, problema que no es común en gatos. Las anormalidades en el pelaje son causas frecuentes de preocupación de propietarios y pueden indicar estadios iniciales de otras enfermedades. Disturbios relacionados con las hormonas gonadales son derivados de quistes o tumores ováricos en las hembras, o de tumores testiculares en los machos. Las repercusiones cutáneas asociadas a estos disturbios incluyen como alteración patológica típica la alopecia atrófica, que es la causa más común de alopecia bilateral en perros. Se observa un crecimiento piloso anormal, con una fase anágena (de crecimiento del pelo) más corta y una fase telógena (de reposo folicular, donde no hay crecimiento) más prolongada. El resultado es que los pelos quedan en una situación de latencia, con atrofia/displasia folicular.

En el abordaje diagnóstico de estos casos es importante considerar que las anormalidades dermatológicas están asociadas a otras alteraciones clínicas y laboratoriales; también, qué diagnósticos diferenciales deben ser evaluados, ya que la alopecia puede ser derivada de enfermedades dermatológicas parasitarias, alérgicas, endocrinas, incluso neoplásicas. No obstante, la presencia de alopecia simétrica bilateral sin historia o evidencias clínicas de inflamación puede indicar una enfermedad sistémica. La ausencia de prurito en una alopecia simétrica bilateral, con pelos fácilmente depilables y disturbios variables de pigmentación de la piel y los pelos es la presentación clásica de atrofia de los folículos pilosos asociada a disturbios hormonales. De cualquier forma, se deben considerar causas no hormonales de alopecia, como la de disolución de color, y las displasias foliculares, que pueden tener una presentación similar.

Tumores testiculares

Los tumores testiculares que afectan a los perros son los sertoliomas, leydigomas y seminomas. Los sertoliomas están asociados a signos clínicos de hiperestrogenismo o síndrome de feminización, ya que son células productoras de estrógenos. Los leydigomas están asociados a síndromes de masculinización, caracterizados por posible hiperandrogenismo. Sin embargo, es posible

la manifestación clínica de feminización frente a un leydigoma secundario a aromatización periférica de los andrógenos. Clínicamente es importante evaluar los grupos de riesgo, ya que estos tumores son observados en animales con criptorquidia. Así, dependiendo de la producción hormonal del tumor testicular pueden esperarse dos síndromes: el de androgenización y el de feminización.

Síndrome de androgenización

Perros con signos de hiperandrogenismo o síndrome de masculinización pueden llegar a la consulta en función de lesiones dermatológicas con alopecia simétrica bilateral sutil. La causa está asociada a la presencia de un leydigoma, aunque ya fue reportada la androgenización secundaria a un seminoma. Además de la alopecia y eventual hiperpigmentación, perros con hiperandrogenismo presentan seborrea oleosa como complicación dermatológica asociada. Los andrógenos presentan un efecto estimulador sobre las glándulas exocrinas y mayor secreción de sebo cutáneo, así como mayor proliferación y secreción de las glándulas de la región perianal. La testosterona es una hormona clásicamente asociada al comportamiento viril del macho, así como a agresividad y dominancia. Desde el punto de vista de comportamiento, es común la queja, por parte de los propietarios, de agresividad, dominancia y territorialismo aumentados, así como una libido exacerbada, evidenciada por masturbación, tentativa de montar hembras fuera de estro, e incluso montar a otros machos.

Una evaluación ecográfica del paciente puede evidenciar prostatopatías, como la hiperplasia prostática benigna, asociada muchas veces a quistes o abscesos prostáticos. Por ecografía también es posible evaluar la presencia de masas tumorales en los testículos, así como alteraciones del parénquima testicular, asociado a degeneración/atrofia testicular. Clínicamente se pueden detectar algunas de estas alteraciones a la palpación testicular y palpación prostática por palpación digital anorrectal, lo que puede ser fácilmente realizado en pacientes de porte medio a grande.

La mayor producción de andrógenos por el tumor puede provocar un *feedback* negativo en el hipotálamo, causando menor secreción de GnRH y, por lo tanto, de LH y FSH, lo que lleva a atrofia del parénquima no afectado. A veces el tumor no produce un andrógeno activo, como la testosterona, sino un precursor androgénico, como la androstenediona o la dehidroepiandrosterona (DHEA). Estos precursores androgénicos no activan de forma eficiente el receptor, aunque en los tejidos periféricos pueden sufrir conversión a formas biológicamente más activas.

La determinación sérica de andrógenos difícilmente tendrá algún valor diagnóstico por causa de diversos factores como fluctuaciones en la secreción diaria, interconversión entre hormonas esteroides, enorme variedad de productos de secreción, y porque muchas veces el disturbio no está relacionado con la excesiva secreción o transformación de determinada hormona, sino con alteraciones en los receptores que pueden estar más sensibles a determinada hormona. En la bioquímica clínica se puede observar hiperlipidemia. La realización de biopsias de piel tiende a evidenciar hallazgos comunes a enfermedades endocrinas, como hiperqueratosis ortoqueratótica, melanosis epidérmica, atrofia de folículos y glándulas foliculares, folículos en telágeno e hiperqueratosis perifolicular.

El diagnóstico definitivo será confirmado después de la castración y posterior resolución de los síntomas. Uno a tres meses después de la cirugía ya es posible observar la reducción del tamaño prostático y la reversión de la hiperplasia perianal. Igualmente, tres a seis meses después el crecimiento piloso debe ser observado. Los signos de comportamiento tienden a ser los primeros en revertir, pero algunos animales pueden mantener el hábito de la masturbación.

Síndrome de feminización

El síndrome de feminización es derivado de un sertolioma productor de estrógenos. Clínicamente las alteraciones cutáneas podrán estar asociadas a signos de feminización, como atracción de otros machos, permisividad a la monta de otros machos, ginecomastia, pene pendular, atrofia testicular, discromia y baja libido. Laboratorialmente la mayor producción de estrógenos puede ser sugerida por la observación de anemia, trombocitopenia y leucopenia (pancitopenia) debido al efecto mielosupresivo asociado a los estrógenos. Las consideraciones en cuanto a mediciones hormonales siguen la misma lógica que con relación a andrógenos. Sin embargo, la citología de la mucosa prepucial puede evidenciar mayor presencia de células queratinizadas típicas de estro. A pesar de poderse detectar elevadas

concentraciones de estrógenos en perros con síndrome de feminización, muchos machos acometidos presentan valores normales de estradiol, pues otras hormonas estrogénicas pueden estar siendo secretadas (estrona, estriol); aquí, el defecto puede ser secundario a la conversión periférica de precursores androgénicos a estrógenos a consecuencia de la mayor actividad periférica de la enzima aromatasa. La castración debe ser tenida como tratamiento patrón de este tipo de pacientes, especialmente si no hay evidencias de metástasis. A veces los testículos quedan retenidos en el tejido subcutáneo o intraabdominal. El uso de progestágenos como el acetato de megestrol y la medroxiprogesterona, a pesar de presentar efectividad terapéutica por sus efectos antiandrogénicos y antiestrogénicos, debe ser evitado, o reservado a situaciones específicas, por motivo de sus efectos deletéreos.

Disturbios ováricos

Los disturbios ováricos están asociados a cuadros clínicos de hiperestrogenismo derivados de quistes foliculares o tumores ováricos; sin embargo, algunos tumores ováricos más raros, como el tumor de células de Sertoli/Leydig, que tiene origen en remanentes de células con potencialidad masculina después de los estadios de desarrollo y diferenciación sexual durante la vida fetal, pueden secretar andrógenos además de estrógenos. En hembras el hiperestrogenismo se manifiesta por signos clínicos como ciclos irregulares, ninfomanía, edema vulvar (con secreción vaginal serosanguinolenta), ginecomastia, discromía intensa, alopecia simétrica e hiperpigmentación difusa. En casos más graves se puede observar anemia o pancitopenia secundaria al efecto supresor de la médula inducido por los estrógenos.

La presentación de signos clínicos de hiperestrogenismo en perras jóvenes está asociada a quistes foliculares, mientras que en perras de mediana a avanzada edad el origen del problema puede ser un tumor ovárico. Los tumores de células de Sertoli/Leydig pueden presentar una intensa actividad estrogénica y/o androgénica. El tratamiento pretende eliminar el origen del problema, y la ovariectomía asociada a histerectomía es altamente aconsejable.

Alopecia X

La alopecia X es un término genérico usado para clasificar una serie de dermatosis sin mayor compromiso sistémico, que se caracterizan por alopecia no pruriginosa e hiperpigmentación. Actualmente se describe la alopecia X con el nombre de 'interrupción del ciclo folicular'. Esta condición es más observada en perros Pomerania, Chow-Chow y Poodle adultos entre 1 y 5 años de edad, tanto en hembras como en machos castrados y no castrados. La alopecia simétrica afecta el tronco, la cara caudal de los miembros posteriores, la región perineal y el cuello. También, se notan alteraciones en la calidad y coloración del pelaje.

El origen del problema no es conocido y varias sinonimias se relacionan con este síndrome, tales como desbalance de hormonas sexuales adrenales, dermatosis responsiva a la hormona del crecimiento, hiposomatotropismo, dermatosis responsiva a la castración, hiperplasia adrenal congénita y seudo-síndrome de Cushing. A pesar de ello, se cree que la alopecia X es derivada de un componente hereditario asociado a la sensibilidad alterada de los receptores hormonales en los folículos pilosos.

El diagnóstico de alopecia X es confirmado tras excluir otros trastornos hormonales como hiperadrenocorticismo e hipotiroidismo, así como enfermedades dermatológicas. La biopsia de piel es fundamental y el examen histopatológico tiene utilidad ya que descarta otros cuadros de presentación similar como la displasia folicular y la alopecia estacional del flanco. El resultado de la evaluación histológica de estos animales evidencia un patrón asociado a endocrinopatías (discreta atrofia y acantosis de la epidermis y del epitelio folicular, hiperpigmentación, teleogenización de los folículos pilosos). Un hallazgo sugestivo, aunque no patognomónico de alopecia X, es la presencia de 'folículos en llama', una alteración caracterizada por proyecciones de queratina a partir del tricolema. Desde el punto de vista laboratorial ninguna anormalidad clinicopatológica suele estar presente. La respuesta terapéutica confirmará el diagnóstico en la mayoría de los casos.

Con la posibilidad de tratarse de un hiperadrenocorticismo atípico o moderado, se ha propuesto la realización de un test de estimulación con ACTH y la medición, no solo de cortisol, sino también de precursores esteroides como androstenediona, DHEA y 17-hidroxiprogesterona, antes y después de administrarse ACTH. Además de onerosa, esta evaluación puede generar datos muy inconsistentes.

La medición de estradiol, testosterona y progesterona antes y después de administrarse ACTH también fue propuesta como una forma de evaluar la existencia de una hiperfunción adrenal y esteroidogénesis anormal. A pesar de estar demostrada la relación entre elevadas concentraciones de 17-hidroxiprogesterona en perros con alopecia X, el papel de esta hormona en la caída de cabellos es desconocido. Una teoría relaciona la alopecia X con la calvicie androgenética de humanos. Hombres jóvenes adultos pueden desarrollar de forma hereditaria y dependiente de producción y sensibilidad periférica a andrógenos distintos patrones de alopecia dependiente de la distribución de receptores hormonales, y en perros se observa la alopecia X con más frecuencia en jóvenes no castrados después de la pubertad entre 1 y 2 años.

Así como la calvicie humana, la alopecia X no pasa de ser un problema estético, de modo que muchos propietarios de perros así lo entienden y aceptan esta condición. No obstante, algunas medidas terapéuticas pueden ser tomadas, con éxito expresivo en algunas de ellas; por ejemplo, la castración resultaría en nuevo crecimiento piloso con cobertura total permanente o temporal en hasta el 75 % de los casos. La administración de GH en dosis de 0,15 U puede ser hecha por vía subcutánea cada dos-tres días hasta por seis semanas y lograr mejora clínica en algunos casos. El uso de GH puede causar diabetes y otras complicaciones, además de ser una medicación controlada y de costo bastante elevado. El tratamiento de los animales con mitotano o trilostano, de forma semejante al tratamiento del síndrome de Cushing, puede ser útil, con casos exitosos debido a la reducción en los niveles de 17-hidroxiprogesterona y cortisol. No obstante, pacientes sometidos a este tipo de terapia tienen necesidad de monitoreo periódico debido al riesgo de hipoadrenocorticismo, una complicación potencialmente fatal e innecesaria frente a un problema meramente estético. La melatonina ha sido considerada una de las primeras opciones terapéuticas en perros con alopecia X, ya que presenta éxito terapéutico en hasta el 50 % de los casos, sin presentación de efectos colaterales. La melatonina es una hormona, producida por la glándula pineal durante la noche, que presenta efecto anagénico en los folículos pilosos, además de afectar la secreción y control de varias hormonas sexuales. La dosis es de 3 a 6 mg por animal, una a dos veces diarias, hasta por dos meses. Además, tratamientos con análogos de GnRH como la deslorelina también se han mostrado efectivos. Otra opción es el microagujamiento de la piel, un procedimiento estético empleado en humanos, en el que la piel es escarificada con pequeñas espículas. La lesión a la dermis induce la mayor síntesis de factores de crecimiento locales, estimulando el crecimiento del pelaje. Este principio fue empleado después de observarse que el pelaje vuelve en los sitios donde ha sido realizada biopsia de piel.

Alopecias secundarias a castración

Rara vez se puede observar el surgimiento de alopecia bilateral simétrica y discretas alteraciones como la hiperpigmentación en perras y perros castrados jóvenes, después de determinado tiempo, con inicio de los síntomas al comenzar la edad adulta. La distribución de la alopecia es bastante similar a las ya descritas, tratándose únicamente de un problema estético, sin que haya signos de enfermedades sistémicas. También puede haber aclaramiento del pelaje (discromía), y las hembras tienden a presentar vulva y mamas infantiles. El tratamiento de estas condiciones puede realizarse a través de reposición hormonal con estrógenos como dietilbestrol o andrógenos como metiltestosterona. No obstante, la respuesta clínica es variable e imprevisible y estos esteroides presentan efectos colaterales, como hepatotoxicidad en el caso de andrógenos, y mielosupresión en el caso de estrógenos.

7.17 Bibliografía

Abraham, G., Gottschalk, J., y Ungemach, F. R. (2005). Evidence for ototopical glucocorticoid-induced decrease in hypothalamic-pituitary-adrenal axis response and liver function. *Endocrinology, 146*, 3163-3171.

Ash, R. A., Harvey, A. M., y Tasker, S. (2005). Primary hyperaldosteronism in the cat: a series of 13 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 7*, 173-182.

Atkinson, K., y Aubert, I. (2004). Myxedema coma leading to respiratory depression in a dog. *Canadian Veterinary Journal, 45*, 318-320.

Behrend, E. N., y Kemppainen, R. J. (2001). Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, 31*, 985-1003.

Birchard, S. J. (2006). Thyreoidectomy in the cat. *Clinical Techniques in Small Animal Practice, 21*, 29-32.

Bond, B. R., Fox, P. R., Peterson, M. E., y Skavaril, R. V. (1988). Echocardiographic findings in 103 cats with hyperthyroidism. *JAVMA*, *192*, 1546-1549.

Broome, M. R. (2006). Thyroid scintigraphy in hyperthyroidism. *Clinical Techniques in Small Animal Practice, 21*, 10-16.

Brunson, B. J., Zhong, Q., Clarke, K. J., Bedi, D., Braden T. D., Van Santen, E., y Judd, R. L. (2007). Serum concentration of adiponectin and characterization of adiponectin protein complexes in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, *68*, 57-62.

Bruyete, D. S. (2001). Feline endocrinology update. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 31,* 1063-1082.

Dixon, R. M., y Mooney, C. T. (1999). Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropine concentrations in the diagnosis of canine hypothyroidism. *Journal of Small Animal Practice, 40*, 72-78.

Dixon, R. M., Reid, S. W., y Mooney, C. T. (2002). Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *Journal of Small Animal Practice, 43*, 334-340.

Edinboro, C. H., Scott-Moncrieff, J. C., Janovitz, E., Thacker, H. L., y Glickman, L. T. (2004). Epidemiologic study of relationships between consumption of commercial canned food and risk of hiperthyroidism in cats. *JAVMA*, *224*, 879-886.

Eingenmann, J. E., Eingenmann, R. Y., Rijinberk, A., Gaag, I., Zapf, J., y Froesch, E. R. (1983). Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinologica, 104*, 167-176.

Favier, R. P., Mol, J. A., Kooistra, H. S., y Rijnberk, A. (2001). Large body size in the dog is associated with transient GH excess at a young age. *Journal of Endocrinology, 170,* 479-484.

Feldman, S. R. (1992). Androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a model for understanding steroid hormone receptors. *Journal of American Academy of Dermatology, 27*, 615-619.

Feldman, E. C., Nelson, R. W., Reush, C., y Scott-Moncrief, C. (2015). *Canine and feline endocrinology and reproduction*, 4.ª ed. Philadelphia, EE. UU.: Saunders.

Ferasin, L. (2001). Iatrogenic hyperadrenocorticism in a cat following a short course of methylprednisolone acetate. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 3*, 87-93.

Finora, K., y Greco, D. (2007). Hypothyroidism and myxedema coma. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 29*, 19-29.

Flanders, J. A. (1999). Surgical options for the treatment of hyperthyroidism in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 1*, 127-134.

Greco, D. S., Peterson, M. E., Davidson, A. P., Feldman, E. C., y Komurek K. (1999). Concurrent pituitary and adrenal tumors in dogs with hyperadrenocorticism: 17 cases (1978-1995). *JAVMA, 214*, 1349-1353.

Greco, D. S. (1997). Congenital canine hypothyroidism. *Canine Practice, 22*, 23-25.

Greco, D. S. (2001). Diagnosis and treatment of juvenile endocrine disorders in puppies and kittens. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *31*, 401-409.

Häggström, M., y otros (2014). Diagram of the pathways of human steroidogenesis. *WikiJournal of Medicine, 1*, 5. doi:10.15347/wjm/2014.005.

Jaggy, A., Oliver, J. E., Ferguson, D. C., Mahaffey, E. A., y Glaus, T. (1994). Neurological manifestations of hypothyroidism: a retrospective study of 29 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine, 8*, 328-336.

Kemppainen, R. J., y Behrend, E. N. (2001). Diagnosis of canine hypothyroidism perspectives from a testing laboratory. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, 31*, 951-962.

Kintzer, P. P., y Peterson, M. E. (1994). Mitotane treatment of 32 dogs with cortisol-secreting adrenocortical neoplasms. *JAVMA, 205*, 54-60.

Lathan, P., y Tyler, J. (2005). Canine hypoadrenocorticism: pathogenesis and clinical features. *Compendium,* 110-132.

Lurie, J. C., y Behrend, E. N. (2001). Endocrine tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 31*, 1083-1110.

Jerico, M.M., Andrade Neto, J. P., y Kogika, M. M. (2015). *Tratado de medicina interna de cães e gatos*. Rio de Janeiro, Brasil: Roca.

Martin, L. J., Siliart, B., Dumon, H. J., y Nguyen, P. G. (2006). Hormonal disturbance associated with obesity in dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 90*, 355-360.

Milne, K. L., y Hayes, H. M. (1981). Epidemiologic features of canine hypothyroidism. *The Cornell Veterinarian, 71*, 3-14.

Mooney, C. T., y Peterson, M. E. (2012). *BSAVA manual of canine and feline endocrinology*, 4.ª ed. Philadelphia, EE. UU.: Saunders.

Nakamura, M., Minegishi, M., Momoi, Y., e Iwasaki, T. (2004). Hypercalcemia in a dog with resolution of iatrogenic Cushing´s syndrome. *Journal of Veterinary Medical Science, 66*, 329-331.

Nelson, R. W., Ilhe, S. L., y Feldman, E. C. (1989). Pitutary macroadenomas and macroadenocarcinomas in dogs treated with mitotane for pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 13 cases (1981-1986). *JAVMA, 194*, 1612-1616.

Panciera, D. L., y Carr, A. P. (2006). *Endocrinologia para o clínico de pequenos animais*. São Paulo: Roca.

Pak, S. I. (2000). The clinical implication of sodium-potassium ratios in dogs. *Journal of Veterinary Science, 1*, 61-65.

Peterson, M. E. (2006). Radiodine treatment of hyperthyroidism. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, *21*, 34-39.

Peterson, M. E. (2006). Diagnostic tests for hyperthyroidism in cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice, 21*, 2-9.

Phillips, D. E., Radlinsky, M. G., Fischer, J. R., y Biller, D. S. (2003). Cystic thyroid and parathyroid lesions in cats. *Journal of American Animal Hospital Association, 39*, 349-354.

Ramsey, I. K., Evans, H., y Herrtage, M. E. (1997). Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *Journal of Small Animal Practice, 38*, 540-545.

Rand, J. (2014). *Clinical endocrinology of companion animals*. Chichester, Inglaterra: Wiley-Blacwell.

Rijnberk, A., Kooistra, H. S., y Mol, J. A. (2003). Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Hormone and IGF Research, 13*, s158-s164.

Rijnberk, A., y Kooistra, H. (2010). *Clinical endocrinology of dogs and cats: an ilustrated text*, 2.ª ed. Hannover, Alemania: Schlütersche.

Roth, L., y Tyler, R. D. (1999). Evaluation of low sodium: potassium ratios in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation, 11*, 60-64.

Schwartz, P., Kovak, J. R., Koprowski, A., Ludwig, L. L., Monette, S., y Bergman, P. J. (2008). Evaluation of prognostic factors in the surgical treatment of adrenal gland tumors in dogs: 41 cases (1999-2005). *JAVMA, 232*, 77-84.

Trepanier, L. A. (2006). Medical management of hyperthyroidism. *Clinical Techniques in Small Animal Practice, 21*, 22-28.

Von Dehn, B. J., Nelson, R. W., Feldman, E. C., y Griffey, S. M. (1995). Pheocromocitoma and hyperadrenocorticism in dogs: six cases (1982-1992). *JAVMA, 207*, 322-324.

Capítulo 8
Bioquímica clínica de las vitaminas

No existe una definición totalmente satisfactoria de las vitaminas. La definición de sustancias orgánicas presentes en cantidades muy pequeñas en los alimentos y esenciales para el metabolismo, cuya deficiencia provoca enfermedades, puede no ser específica, pues se puede aplicar a otros compuestos. Las vitaminas son un grupo de compuestos orgánicos que no se ajustan a la clasificación de macronutrientes. No están químicamente relacionadas entre sí y se las encuentra distribuidas en los reinos vegetal y animal. Aunque necesarias en pequeñísimas cantidades en la alimentación, las vitaminas son consideradas esenciales, o sea que el organismo no las sintetiza o lo hace solo en bajas cantidades, siendo necesario su consumo en la alimentación. Algunas vitaminas pueden ser sintetizadas por el organismo, como es el caso de la niacina (a partir de triptofano), ácido ascórbico (a partir de glucosa, excepto en primates) y vitamina D (a partir de colesterol). Así, estos compuestos en algunas especies y condiciones fisiológicas pueden no reunir, en rigor, la definición clásica de vitamina. En el **Cuadro 8.1**, al final de este capítulo, se presentan los principales hitos históricos en el estudio de las vitaminas hasta el siglo xx.

8.1 Clasificación de las vitaminas

Las vitaminas se clasifican, con relación a su solubilidad, en liposolubles e hidrosolubles. Once vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, cianocobalamina, colina, ácido ascórbico y carnitina) son clasificadas como hidrosolubles, mientras que cuatro (A, D, E y K) son liposolubles. Las vitaminas hidrosolubles constituyen un grupo de compuestos estructural y funcionalmente independientes que comparten la característica de ser esenciales para el metabolismo animal, participando como coenzimas. De manera general (salvo la cianocobalamina), no son almacenadas en cantidades significativas en el organismo, siendo el exceso rápidamente excretado vía urinaria, lo que lleva muchas veces a la necesidad de un suplemento diario de estas vitaminas. Las vitaminas liposolubles son compuestos constituidos por unidades de isopreno y desempeñan papeles fundamentales en el metabolismo o en la fisiología de los animales. Se encuentran en la fase lipídica en los alimentos y su absorción intestinal está regulada por los mismos mecanismos de absorción de lípidos. Excepto por la vitamina K, las vitaminas liposolubles pueden ser almacenadas sobre todo en el hígado. La vitamina A suministra el pigmento fotosensible de los ojos en los vertebrados, es un regulador de expresión génica durante el crecimiento de las células epiteliales; la vitamina D es precursora de una hormona que regula el metabolismo del calcio; la vitamina E funciona en la protección de los lípidos de membrana contra el daño oxidativo, y la vitamina K es primordial en el proceso de coagulación sanguínea. Estas vitaminas se pueden acumular y, ocasionalmente, en casos de exceso, pueden causar trastornos. En la **Tabla 8.1** se citan las principales vitaminas, sus funciones esenciales y las fuentes alimentarias.

8.2 Vitaminas liposolubles

Vitamina A (retinol)

La estructura química de la vitamina A (retinoides y carotenoides) fue determinada a mediados del siglo xx y enseguida estudios sobre su función biológica y la síntesis comercial de ella fueron rápidamente desarrollados. El término retinoide se refiere a la clase de compuestos que incluye retinol y sus derivados químicos, con cuatro unidades de isoprenoides. La vitamina A engloba un grupo de carbohidratos insaturados, incluyendo retinol y compuestos relacionados, así como algunos carotenoides.

La vitamina A como tal no está presente en las plantas, aunque estas contienen sus precursores, los carotenoides, los cuales pueden ser convertidos en vitamina mediante reacción enzimática en el

Tabla 8.1 Principales vitaminas y sus funciones

Vitamina	Función
Ácido ascórbico	Antioxidante, síntesis de colágeno, protección de membranas.
Ácido pantoténico	Transporte y transferencia de grupos acilo (formación de coenzima A).
Biotina	Carboxilación, desaminación.
Carnitina	Transporte de ácidos grasos en la célula (intramitocondrial).
Cianocobalamina	Coenzima de enzimas mutasas, hematopoyesis, transferencia de grupos metilo.
Colina	Transporte de lípidos, factor lipotrópico, neurotransmisión, síntesis de metionina y creatina.
Folacina	Transferencia de unidades de carbono, síntesis de purinas y pirimidinas, hematopoyesis.
Niacina	Cofactor enzimático de reacciones de óxido-reducción (coenzimas NAD, NADP), poliadenilación.
Piridoxina	Transaminación, descarboxilación, síntesis del grupo hemo.
Riboflavina	Cofactor enzimático de reacciones de óxido-reducción (coenzimas FAD, FMN).
Tiamina	Metabolismo de glúcidos, descarboxilación del piruvato, transmisión nerviosa.
Vitamina A	Visión, transcripción génica, manutención de los epitelios, desarrollo óseo.
Vitamina D	Manutención de la calcemia (absorción intestinal de calcio y fósforo).
Vitamina E	Antioxidante.
Vitamina K	Coagulación sanguínea, formación de osteocalcina.

intestino de los animales. Los carotenoides contribuyen significativamente a la actividad de la vitamina A en alimentos tanto de origen animal como vegetal. Frutas, plantas y vegetales amarillos y verde-oscuros son buenas fuentes dietéticas de carotenos. De los seiscientos carotenoides conocidos, cerca de cincuenta presentan alguna actividad de provitamina A. Alimentos de origen vegetal contienen β-caroteno, que puede ser clivado oxidativamente en el intestino, en dos moléculas de retinal. Entre todos los carotenoides, el β-caroteno es el que presenta mayor actividad provitamínica A. La primera etapa metabólica de la conversión de caroteno en vitamina A ocurre por acción de la enzima β-caroteno-15,15´-dioxigenasa. Los gatos no poseen la enzima clivante y, por tanto, no pueden usar carotenos como fuente de vitamina A (**Figura 8.1**).

El potencial de provitamina A en plantas se preserva mejor cuando los pastos son conservados en forma de heno, aunque hay disminución cuando el almacenaje se realiza en ausencia de oxígeno. Granos, con algunas excepciones (ejemplo maíz amarillo), son menores fuentes de provitamina A. Entre los granos de leguminosas el garbanzo tiene la mejor fuente carotenoide. La fuente más rica de carotenos es el aceite de palma roja. Fuentes ricas de vitamina A están en los aceites de pescado. Si bien hay la posibilidad de producirse dos moléculas de vitamina A por cada molécula de β-caroteno, la ineficiencia de ese proceso contribuye para que el β-caroteno exhiba apenas 50 % de actividad de la vitamina A.

La actividad de la vitamina A en tejidos animales se encuentra sobre todo en la forma de retinol, retinal y, en menor cantidad, ácido retinoico. El retinol es un alcohol primario que contiene un anillo β-ionona con cadena lateral insaturada, y se encuentra en tejidos animales como éster retinilo con ácidos grasos de cadena larga. El retinal es el aldehído derivado de la oxidación del retinol. El retinal y el retinol pueden ser fácilmente interconvertidos. El ácido retinoico es el derivado ácido de la oxidación del retinal. Este ácido no puede ser reducido en el organismo y, así, no puede originar retinal ni retinol. La mayor concentración de vitamina A en los animales es en el hígado, principal órgano almacenador (90 % del total), donde el retinol y sus ésteres son las principales formas presentes.

En la mayoría de los animales la absorción de vitamina A varía de 70 % a 90 %, mientras que la eficiencia en absorción de carotenoides adicionados a

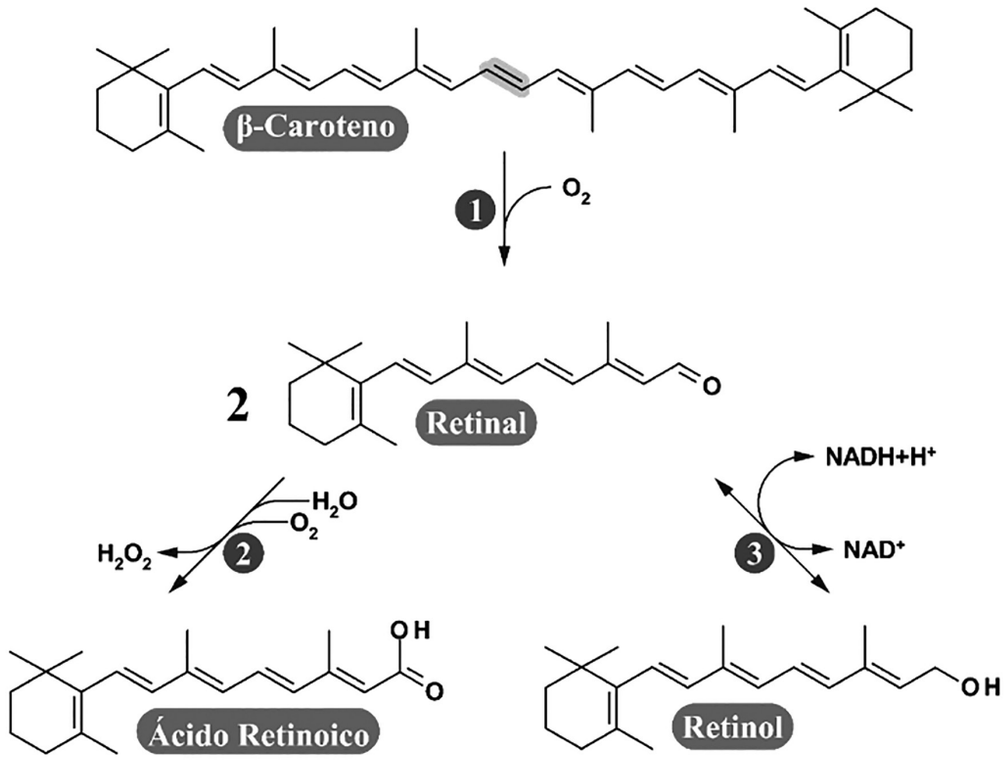


Figura 8.1 El β-caroteno como precursor de la vitamina A

El doble enlace de la cadena carbonada del β-caroteno que se oxida para la formación de retinal está resaltado en fondo gris. Todas las moléculas representadas se encuentran en la forma *trans*. Las enzimas participantes son: [1] β-caroteno-15,15'-dioxigenasa, [2] retinal oxidasa y [3] retinol oxidorreductasa. La reacción [2] también puede ser catalizada por la enzima retinal deshidrogenasa, en la cual el O_2 y el H_2O_2 de la reacción son sustituidos por NAD^+ y $NADH + H^+$, respectivamente. La reacción [3] también puede ser catalizada por oxidorreductasas que utilizan $NADP^+$ y $NADPH + H^+$.

la dieta es de 40 % a 60 %, dependiendo del carotenoide. Las especies que absorben carotenos (bovinos, equinos, aves, humanos) pueden presentar tejido adiposo amarillo, ya que los carotenos se almacenan en el hígado y la grasa. Las especies que clivan totalmente los carotenos en el intestino (ovinos, caprinos, cerdos, caninos) poseen grasa blanca. Las vacas de raza Holstein tienen más eficiencia para clivar carotenos en el intestino, generan grasa y leche de color blanco, mientras que las razas Jersey y Guernsey absorben más carotenos y poseen leche y tejido adiposo de color amarillento.

En los animales la vitamina A está presente, en gran cantidad, como ésteres lipídicos en el hígado y el riñón, aunque también se encuentra en la grasa de la leche y en la yema del huevo. En el plasma la vitamina A es transportada desde su sitio de almacenamiento en el hígado hasta los tejidos en su forma alcohol (retinol) ligada a una proteína transportadora de retinol (RBP). Cuando hay deficiencia de vitamina A ocurre bloqueo de la secreción de RBP hepática y los niveles plasmáticos de esta proteína disminuyen. Los requerimientos de vitamina A en la dieta están en torno de 3.000 UI/kg (materia seca). Caprinos y felinos tienen requerimientos mayores (cerca de 5.000 U/kg). Los requerimientos aumentan en animales expuestos a condiciones estresantes y a enfermedades.

Funciones de la vitamina A

La vitamina A es esencial para la visión y la reproducción, crecimiento y manutención de los tejidos epiteliales. El ácido retinoico, derivado de la oxidación del retinol de la dieta, es intermediario en la mayoría de las acciones de los retinoides, excepto para la visión,

que depende del retinal (derivado aldehído del retinol). La deficiencia de ácido retinoico causa defectos en la reproducción y diferenciación de los epitelios. Las acciones del ácido retinoico sobre la regulación de la transcripción de muchos genes han llevado a considerar este compuesto como una hormona.

La función fisiológica de la vitamina A sobre la visión es la más entendida desde el punto de vista bioquímico. En el ciclo visual o ciclo del retinol (**Figura 8.2**) la vitamina A es componente de los pigmentos de las células conos y bastones de la retina. La rodopsina, el pigmento visual de los bastones en la retina, se origina del 11-*cis*-retinal unido específicamente a la proteína opsina. Cuando la rodopsina se expone a la luz ocurre una serie de isomerizaciones fotoquímicas, las cuales resultan en decoloración del pigmento visual y liberación de *trans*-retinal y opsina. La energía de este proceso origina un impulso nervioso que es transmitido por el nervio óptico al encéfalo y provoca el efecto de la visión. La deficiencia de vitamina A causa ceguera nocturna (nictalopía), típico signo clínico en animales. La regeneración de la rodopsina necesita la isomerización del *trans*-retinal, formando nuevamente el 11-*cis*-retinal. El *trans*-retinal, después de ser liberado de la rodopsina, es isomerizado a 11-*cis*-retinal, que se combina espontáneamente con la opsina para formar la rodopsina, completando el ciclo.

La vitamina A es necesaria para la manutención de los epitelios, de forma que su deficiencia causa fallas de queratinización y funcionalidad, principalmente en las células epiteliales de los tractos gastrointestinal, respiratorio y urogenital, además del ojo. La posible relación de la vitamina A con la manutención de los epitelios puede estar en el papel de esta vitamina en la formación de glucosamina, compuesto que hace parte de los mucopolisacáridos, componentes del moco epitelial.

La vitamina A también desempeña un papel en el desarrollo normal de los huesos, a través de la actividad ejercida sobre los osteoclastos del epitelio de los cartílagos. En deficiencia de vitamina A la actividad osteoclástica se reduce y puede causar crecimiento desorganizado de los huesos e inflamación de las articulaciones. En la reproducción, la vitamina A cumple una importante función para la manutención del epitelio germinativo y en los túbulos seminíferos de los machos y en la sobrevivencia embrionaria. En algunas especies la deficiencia de vitamina A puede causar retención de placenta. En las vacas la vitamina A y los carotenos ejercen importante función de protección contra numerosas infecciones, incluyendo mastitis.

Deficiencia de vitamina A

La deficiencia de vitamina A lleva al menos a cuatro tipos de lesiones: disminución de visión por falla en la formación de rodopsina, defectos en el crecimiento óseo, fallas en la reproducción (espermatogénesis disminuida, muerte embrionaria o fetal) y defectos en el crecimiento y diferenciación de los tejidos epiteliales (resulta en queratinización). La deficiencia prolongada de vitamina A lleva a disminución de la visión, principalmente en la noche (nictalopía) por bloqueo del ciclo del retinol y ausencia de rodopsina. La deficiencia grave ocasiona xeroftalmia, un resecamiento patológico de la conjuntiva y la córnea, que si no es tratada produce ulceración de la córnea y finalmente ceguera debido a la formación de tejido de cicatrización opaco, cuadro que puede ser observado en bovinos y cerdos, en los cuales la carencia de vitamina A puede causar también queratinización epitelial. En la dermis la falta de vitamina A deviene en una sobrecapa escamosa que lleva a pérdida de funcionalidad de la célula epitelial. En los pulmones la deficiencia de vitamina A puede disminuir la secreción mucosa, lo que facilita el establecimiento de infecciones. En el intestino la queratinización induce la pérdida de función prematura de los enterocitos y síndrome de mala absorción, causando diarrea. Además, la carencia de vitamina A disminuye la tasa de crecimiento y el desarrollo óseo en animales jóvenes. Cantidad adecuada de vitamina A en la dieta garantiza la normal resistencia a estrés e infecciones; no obstante, un consumo más allá de las necesidades de esta vitamina no garantiza mayor resistencia en la prevención de infecciones. Otros signos clínicos observados en la deficiencia de vitamina A incluyen pérdida de apetito y de peso, descarga nasal, conjuntivitis, lagrimeo, fertilidad reducida, aborto y apariencia emaciada, entre otros. Asimismo, la deficiencia de vitamina A puede resultar indirectamente en deficiencia de cinc, ya que este mineral es necesario para la síntesis de la proteína transportadora de retinol (RBP). La disminución de RBP tiene como consecuencia la deficiencia de vitamina A.

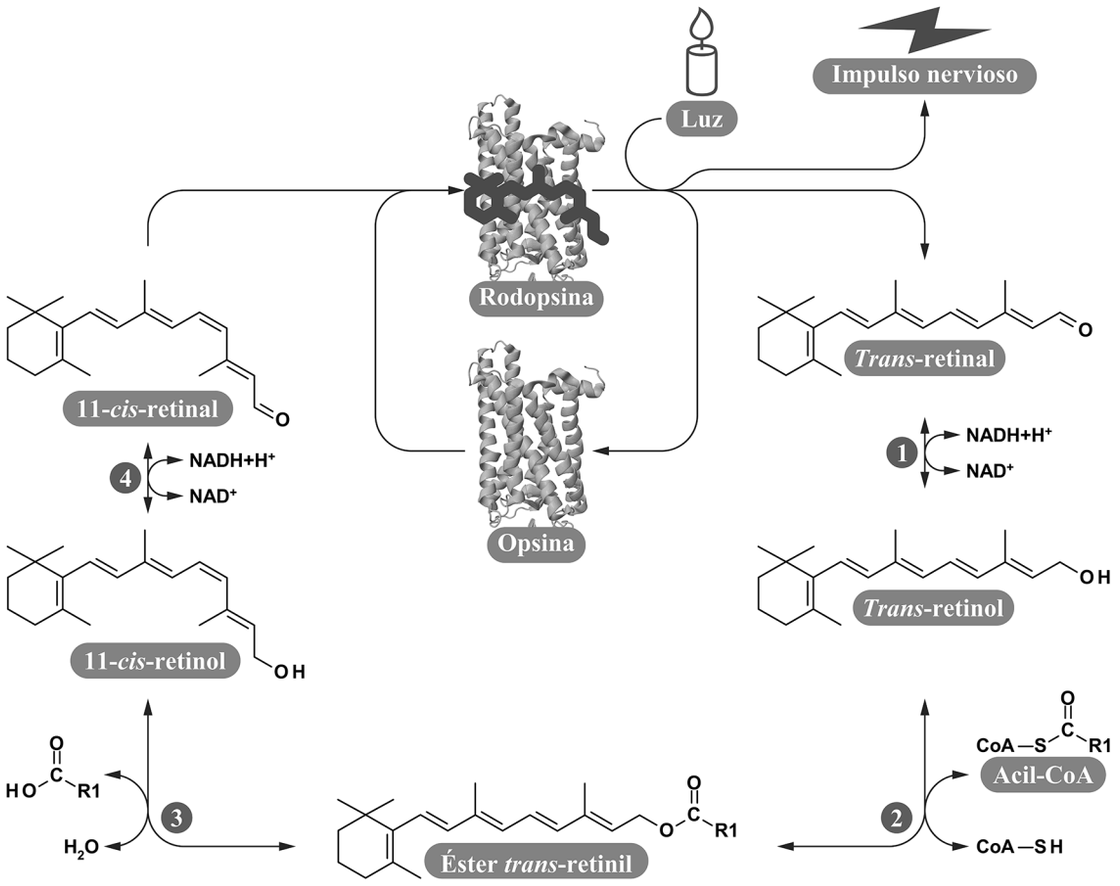


Figura 8.2 La vitamina A y la bioquímica de la visión en mamíferos

La fototransducción visual es un proceso por el cual la luz (fotón) se convierte en señal eléctrico en las células fotosensibles de la retina. Este proceso es mediado por opsinas, que son receptores acoplados a la proteína G (GPCR, *G protein-coupled receptor*), que contienen el cromóforo 11-*cis*-retinal. Este cromóforo está covalentemente unido a la opsina, formando la rodopsina. Cuando es incidido por un fotón, el 11-*cis*-retinal sufre fotoisomerización para formar *trans*-retinal, alterando la conformación de la rodopsina y del complejo GPCR, lo que lleva a cascadas de transducción en la señal de la célula fotorreceptora. Después de la isomerización y liberación de la proteína opsina, el *trans*-retinal se reduce a *trans*-retinol. En seguida es esterificado y luego convertido en 11-*cis*-retinol. Finalmente, es oxidado en 11-*cis*-retinal, cerrando el ciclo, para nuevamente ser conjugado en una opsina y formar un nuevo pigmento visual funcional (rodopsina). R1 corresponde a la cadena carbonada de un ácido graso. Las enzimas participantes son: [1] *trans*-retinol deshidrogenasa, [2] *trans*-retinol aciltransferasa, [3] éster *trans*-retinil acil-hidrolasa y [4] 11-*cis*-retinol deshidrogenasa.

Toxicidad de la vitamina A

La vitamina A puede ser un problema, tanto por deficiencia como por exceso. Los rumiantes son más tolerantes a altas dosis de vitamina A debido a la degradación de esta vitamina en el rumen. Los principales signos de la hipervitaminosis A incluyen malformaciones óseas, fracturas espontáneas, hemorragia interna, pérdida de apetito y peso, engrosamiento de la piel, incremento del tiempo de coagulación, anemia y conjuntivitis. La toxicidad de la vitamina A puede ser clasificada en tres categorías: aguda, crónica y teratogénica. Cuando una única dosis de vitamina A (mayor de 100 mg) es inyectada en animales de 20 a 50 kg de peso, aparecen signos como náusea, vómito, aumento de presión del fluido espinal y fragilidad muscular. La toxicidad crónica puede ser inducida por dosis diez veces superiores a lo recomendado; esa dosis puede llevar a alopecia, ataxia, dolores óseos y musculares, y prurito. Aunque los gatos tengan alta tolerancia a dosis excesivas de vitamina A, ocurre hipervitaminosis A en animales que posean dieta basada en hígado. Gatos afectados presentan deformación en el esqueleto, particularmente exostosis de vértebras cervicales. La vitamina A es también un poderoso teratogénico. Una dosis excesiva

única (100 mg), durante la gestación, para animales que pesen entre 20 y 50 kg, puede ocasionar malformación fetal. En el caso de humanos, la hipervitaminosis A está relacionada con el abuso de las suplementaciones y las automedicaciones. Al contrario de los retinoides, los carotenoides por lo general no son tóxicos y muchos animales los ingieren sin efectos deletéreos. La eficiencia de la conversión de caroteno en vitamina A disminuye cuando hay aumento de la vitamina, lo cual se considera un mecanismo de control homeostático que protege del exceso de caroteno.

Vitamina D (1,25-dihidroxi-colecalciferol)

La observación de que la irradiación de alimentos (leche, mantequilla) resultaba en la producción de un factor antirraquitismo, llevó a identificar la vitamina D_2 a partir de la provitamina ergosterol y la vitamina D_3 a partir de la provitamina 7-dehidrocolesterol. La actividad de la vitamina D está asociada a varios esteroides, incluyendo el colecalciferol, de fuentes animales, y el ergocalciferol, una forma exclusivamente sintética de vitamina D, que se forma por irradiación del fitoesterol (esterol vegetal) con luz ultravioleta, comúnmente adicionada a la leche y la mantequilla como suplemento alimentario para humanos. El ergocalciferol y el colecalciferol son fuentes de vitamina D preformada y difieren por la presencia de un enlace doble adicional y un grupo metilo en el esterol vegetal (**Figura 8.3**).

En la década de 1960 comenzó una nueva escala en el estudio de la vitamina D, cuando se reconoció que ella es el precursor de la hormona esteroide 1,25-dihidroxi-colecalciferol (1,25-DHCC) y a inicios de los años 1970 se determinó que el 1,25-DHCC era producido en el riñón. A partir de entonces la vitamina D y sus derivados adquirieron la categoría de hormonas. El colecalciferol es formado en la piel mediante la exposición a la luz solar. Ese proceso está constituido de varias etapas, las cuales envuelven la modificación fotoquímica del 7-dehidrocolesterol seguida por isomerización no enzimática. Por ese motivo, en la síntesis *in vivo* las exigencias de vitamina D en la dieta dependen de la exposición a la luz solar. A pesar de que la mayoría de las especies animales poseen abundante 7-dehidrocolesterol en la piel, gatos, perros y otros carnívoros contienen apenas pequeñas cantidades de este compuesto, lo que no permite una adecuada síntesis de vitamina D, haciendo que dependan casi exclusivamente de la dieta.

El ergocalciferol y el colecalciferol no son biológicamente activos y deben ser convertidos *in vivo* en la forma activa de la vitamina D por reacciones secuenciales de hidroxilación (**Figura 6.2**). La primera reacción ocurre en la posición 25, siendo catalizada por una hidroxilasa específica en el hígado. El producto de la reacción, el 25-HCC, es la forma predominante de vitamina D en el plasma y la principal forma de almacenamiento de la vitamina. Esa forma es posteriormente hidroxilada en la posición 1 por la enzima 25-hidroxi-colecalciferol-1α-hidroxilasa específica, encontrada sobre todo en el riñón, resultando en la formación de 1,25-DHCC (vitamina D_3 activa o calcitriol). Esa hidroxilasa, así como la 25-hidroxilasa en el hígado, utiliza citocromo p450, oxígeno molecular y NADPH. El 1,25-DHCC es el metabolito más potente de la vitamina D y está involucrado en la regulación de la absorción y el metabolismo del calcio. Su formación es regulada por los niveles plasmáticos de fósforo y calcio. En los tejidos el 1,25-DHCC puede ser catabolizado mediante la enzima 24-hidroxilasa en ácido calcitroico, compuesto inactivo biológicamente que es excretado por la bilis. La actividad de la enzima 25-HCC-1α-hidroxilasa aumenta directamente en función de bajo fósforo plasmático, o indirectamente por disminución de calcio en el plasma, que dispara la liberación de la hormona

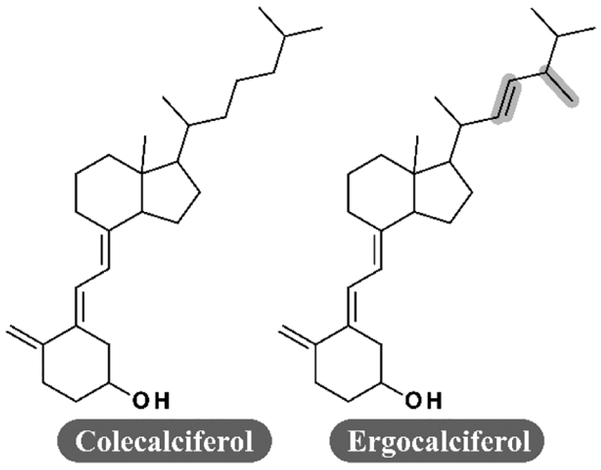


Figura 8.3 Estructuras del colecalciferol y del ergocalciferol

El doble enlace y el grupo metilo (CH_3) presentes en el ergocalciferol de origen vegetal, y que lo diferencian del colecalciferol de origen animal, se resaltan en fondo gris.

PTH, la cual induce la síntesis de la enzima en el riñón. Así, la hipocalcemia causada por deficiencia o balance negativo de calcio en la dieta aumenta la secreción de PTH, lo que posteriormente deriva en niveles elevados de 1,25-DHCC en el plasma por acción estimuladora de la PTH sobre la síntesis de la enzima 1α-hidroxilasa renal. La actividad de 1α-hidroxilasa disminuye por exceso de fósforo y de 1,25-DHCC. Otra enzima del riñón puede hidroxilar el 25-HCC en la posición 24, formando el compuesto 24,25-dihidroxi-colecalciferol (24,25-DHCC), compuesto inactivo, cuando la actividad de la 1*α*-hidroxilasa está reducida, esto es, cuando hay niveles plasmáticos normales de calcio y fósforo. En la **Figura 6.1** se presenta un esquema general del control endocrino de la calcemia y la fosfatemia.

La vitamina D es susceptible a la degradación por la luz. En los alimentos esa degradación puede ocurrir durante el almacenamiento. De modo general, no obstante, la estabilidad de la vitamina D en los alimentos, especialmente en condiciones anaeróbicas, no es una preocupación importante. La vitamina D se encuentra en mayores cantidades en pescados, particularmente de agua salada, como salmón, sardinas, y en el aceite de hígado de pescado. En el plasma la vitamina D es transportada por una proteína hepática específica, denominada proteína transportadora de vitamina D (DBP) o transcalciferina. La mayoría de los animales, salvo los carnívoros, no tienen requerimiento de vitamina D desde que tengan disponible suficiente luz solar. Los requerimientos en la dieta están entre 200-400 UI/kg (base seca).

Funciones de la vitamina D

Inicialmente la vitamina D fue identificada como un cofactor en reacciones que servían para mantener los niveles de calcio y fósforo. En las décadas de 1960 y 1970 una serie de descubrimientos llevó a ampliar el conocimiento sobre el metabolismo de la vitamina D. Esta vitamina pertenece a un grupo de esteroides que presentan funciones semejantes a las de las hormonas y su acción principal es estimular la absorción intestinal de calcio y fósforo. La vitamina D regula la expresión génica interactuando con receptores nucleares específicos de las células epiteliales del intestino, que inducen la síntesis de transportadores de calcio y fósforo. El 1,25-DHCC entra en la célula intestinal y se une a un receptor citosólico. El complejo 1,25-DHCC-receptor se mueve para el núcleo, donde interactúa selectivamente con el DNA celular y estimula la síntesis de calbindina, proteína unidora de calcio específica que actúa estimulando la absorción intestinal de calcio. El 1,25-DHCC también estimula la producción de ATPasas dependientes de calcio y Na, que facilitan el movimiento vectorial de calcio hacia fuera de la célula intestinal y adentro de la circulación. Además, el 1,25-DHCC es indirectamente requerido para la mineralización ósea durante el crecimiento del esqueleto. Receptores de vitamina D en los huesos están localizados en los osteoblastos, que controlan la síntesis y secreción de proteínas específicas en los osteoblastos como osteocalcina, osteopontina, colágeno y fosfatasa alcalina. En los huesos los efectos de la vitamina D son similares a la PTH, movilizan calcio y fósforo de la matriz ósea y de la fracción mineral a través de un efecto osteolítico. Aparentemente, la hormona requiere la presencia de PTH para actuar en el hueso (efecto permisivo). Como su acción es bloqueada por la actinomicina D, se cree que la transcripción para formar mRNA y sintetizar proteína sea un requerimiento de poder causar su efecto. En el riñón, el 1,25-DHCC disminuye la excreción renal de calcio y fósforo, manteniendo esos minerales en el organismo. Los receptores de vitamina D son encontrados en un gran número de células, desde células del músculo esquelético hasta células importantes para la inmunidad y funciones fagocíticas, como los macrófagos. En el raquitismo dependiente de vitamina D, enfermedad genética causada por la alteración de un gen autosómico recesivo, observada en cerdos y humanos, ocurre falla en la síntesis de la enzima 1α-hidroxilasa, no pudiendo sintetizar 1,25-DHCC aunque el organismo tenga las moléculas precursoras. Investigaciones sobre receptores de la vitamina D en varios órganos revelan que los metabolitos de esta vitamina pueden estar ejerciendo otras funciones, además de las reguladoras sobre el metabolismo del calcio y el fósforo. Existen, por ejemplo, evidencias sobre regulación de crecimiento y diferenciación en varios tipos de células, así como sobre regulación de la hematopoyesis y de los sistemas inmunes. En humanos ha sido reportado que la deficiencia de vitamina D puede promover cáncer de próstata por mecanismos no esclarecidos.

Deficiencia de vitamina D

La deficiencia de vitamina D causa desmineralización de los huesos (disminuye la concentración de calcio

y fósforo en la matriz orgánica de los cartílagos y los huesos), ocasionando raquitismo en los animales jóvenes y osteomalacia en los adultos. El raquitismo se caracteriza por la formación continua de matriz de colágeno en los huesos, pero con mineralización incompleta, resultando en huesos flexibles y maleables. Los huesos se presentan frágiles, con posibilidades de fracturas espontáneas, además de tener un crecimiento alterado, principalmente observable en los huesos largos como el fémur, la tibia, el húmero y las costillas. Los huesos largos de las extremidades tienden a arquearse, ocasionando defectos de aplomo (postura) de esos animales e inflamación de las articulaciones debido a la fragilidad de los huesos. Por ser de ocurrencia en la fase de crecimiento, tales defectos de aplomo son prácticamente insanables en la vida adulta. En la osteomalacia existe desmineralización de huesos preexistentes, aunque con matriz orgánica normal (diferente de la osteoporosis, en que están disminuidas tanto la mineralización como la matriz proteica de los huesos). Cuando la masa ósea se reduce, se pierde el soporte mecánico y la integridad del esqueleto, aumentando la susceptibilidad a fracturas. Otros signos del raquitismo envuelven pérdida de peso, inhibición del crecimiento, rigidez en la marcha, disnea, irritabilidad, debilidad y disminución del apetito. En hembras gestantes la osteomalacia puede producir malformaciones congénitas en recién nacidos y lesiones óseas en la madre.

En vacas lecheras la deficiencia de vitamina D puede causar menor producción de leche e inhibición del estro. En estos animales la edad es un factor predisponente para sufrir fiebre de leche, trastorno en que ocurre una hipocalcemia en función de la alta producción de leche, que puede estar siendo inducido tanto por una síntesis disminuida como por baja respuesta de los órganos-blanco al 1,25-DHCC (baja síntesis de receptores en huesos y riñón). El raquitismo renal (osteodistrofia renal) resulta de insuficiencia renal crónica y, por tanto, de la disminución en la capacidad de producir la forma activa de la vitamina D. La administración de 1,25-DHCC es una terapia de reposición eficiente. En el hipoparatiroidismo la ausencia de PTH causa hipocalcemia e hiperfosfatemia. Esos pacientes pueden ser tratados con cualquier forma de vitamina D, junto con PTH. La vitamina D debe ser suplementada en animales en crecimiento o producción que reciben poca luz solar en días nublados o por manejo en confinamiento. En vacas lecheras, debido a la toxicidad de la vitamina D_3 en gestantes, no es recomendable usar vitamina D_3 en inyecciones para prevenir fiebre de leche en el preparto. En esos casos es preferible usar vitamina D_2.

Toxicidad de la vitamina D

La D es la más tóxica de las vitaminas. Como compuesto liposoluble la vitamina D puede almacenarse en el organismo, siendo metabolizada lentamente. La mayoría de los animales requiere máximo 5 μg de vitamina D por 1.000 Kcal de la dieta. Cuando la ingestión excede cinco a diez veces esa cantidad, hay riesgo de toxicidad. La hipervitaminosis D se caracteriza por hipercalcemia y calcificación de tejidos blandos, en especial articulaciones, membranas sinoviales, pulmones, riñón, arterias, córnea y miocardio. La hipervitaminosis D puede causar calcificación ectópica, como consecuencia del aumento de la desmineralización *ósea*. Los huesos se vuelven frágiles y susceptibles de fracturas. Son observadas hipercalcemia e hipercalcinuria con concentraciones normales o disminuidas de fósforo. Los efectos de la hipervitaminosis D son debidos al 25-HCC, pues el 1,25-DHCC está regulado de forma rigurosa, a menos que sea directamente administrado al organismo vía parenteral. Dosis muy altas de vitamina D (cien veces el requerimiento) pueden resultar en balance negativo de calcio, porque la resorción ósea es acelerada, además de signos como pérdida de apetito, náuseas, sed y estupor.

A pesar de que los vegetales no contienen vitamina D_2, algunas plantas como *Solanum malacoxylon* (duraznillo blanco), *Cestrum diurnum* (jazmín diurno) y *Trisetum flavescens* (avena amarilla) contienen compuestos con actividad de vitamina D (un glucósido hidrosoluble de 1,25-DHCC). El consumo de estas plantas por animales herbívoros puede llevar a toxicidad, causando calcinosis, manifestada por deposición de calcio en los tejidos blandos, que en casos severos puede llevar a insuficiencia cardíaca y pulmonar agudas. La toxicidad de la vitamina D_3 es diez a veinte veces mayor que la vitamina D_2.

Vitamina E (tocoferol)

Los tocoferoles y los tocotrienoles, principales compuestos con actividad de vitamina E en los alimentos, son derivados del compuesto original tocol, que presenta uno o más grupos metilo en las posiciones 5, 7 u 8 de la estructura del anillo cromano. Las formas

α, β, γ y δ de tocoferol y tocotrienol difieren según el número y la posición de los grupos metilo y, por tanto, difieren significativamente en la actividad de la vitamina E. El α-tocoferol presenta la mayor actividad de vitamina E y tiene función antioxidante. Los tres carbonos asimétricos (2, 4′ y 8′) de la molécula de tocoferol y la configuración estereoquímica de esas posiciones en la vitamina E también influencian la actividad vitamínica del compuesto (**Figura 8.4**). Los tocoferoles y los tocotrienoles son muy apolares y existen sobre todo en la fase lipídica de los alimentos. Todos los tocoferoles y tocotrienoles, cuando no se encuentran esterificados, tienen la capacidad de actuar como antioxidantes. Ellos desactivan radicales libres, donando un H^+ fenólico y un electrón. Los tocoferoles son constituyentes naturales de todas las membranas biológicas; se cree que contribuyen en la estabilidad de la membrana debido a su actividad antioxidante. Los tocoferoles y los tocotrienoles de ocurrencia natural también contribuyen en la estabilidad de los aceites vegetales altamente insaturados, por medio de su acción antioxidante. Los compuestos vitamínicos E presentan estabilidad razonable en ausencia de oxígeno y lípidos oxidantes. Tratamientos anaeróbicos en el procesamiento de alimentos, como los enlatados autoclavados, ejercen poco efecto sobre la actividad de vitamina E. En contrapartida, la tasa de degradación de la vitamina E aumenta en presencia de oxígeno molecular y puede ser particularmente rápida cuando radicales libres también están presentes.

La vitamina E se almacena en el organismo en todos los tejidos, pero los mayores depósitos son hígado, tejido adiposo y músculo. Los requerimientos de vitamina E en la dieta de las diferentes especies están entre 15 y 60 UI/kg (base seca) con valores que pueden llegar a 80 UI/kg en animales en crecimiento. Esos requerimientos pueden aumentar ante situaciones de estrés, ejercicio, infecciones y traumas. Los requerimientos de vitamina E y selenio son mutuamente reemplazables. La vitamina E reduce las necesidades de selenio de dos maneras: previniendo pérdidas corporales de selenio y previniendo la peroxidación de los lípidos de membranas preservando glutatión peroxidasa (GPx), que contiene selenio. A su vez, el selenio puede reducir las necesidades de vitamina E de tres formas: preservando la integridad del páncreas para la normal digestión de las grasas y, por tanto, de la absorción de vitamina E; reduciendo la cantidad de vitamina E requerida para mantener la integridad

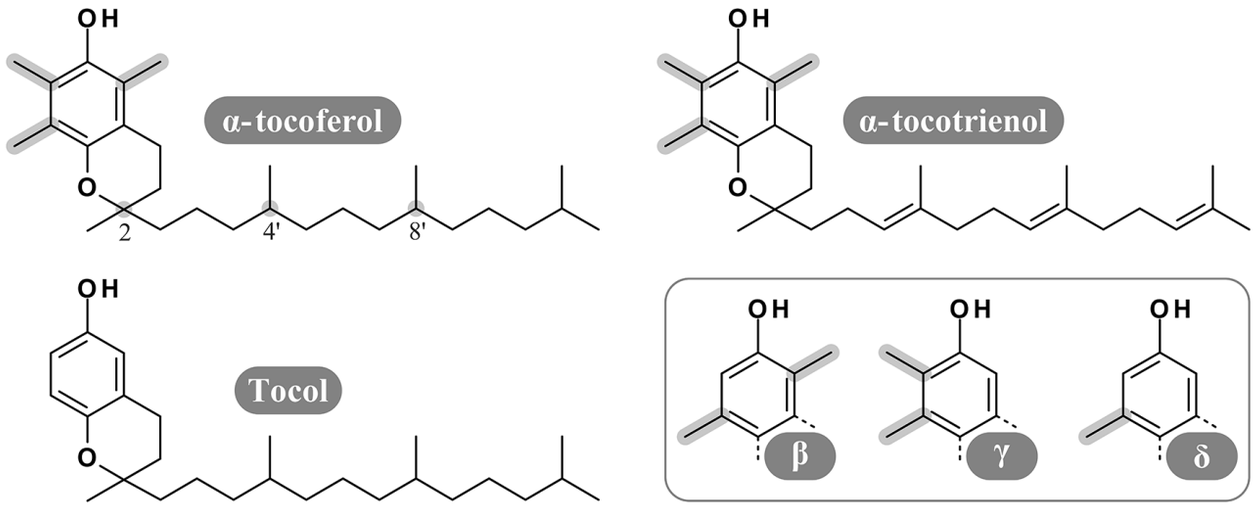


Figura 8.4 Estructuras de los tocoferoles, los tocotrienoles y el tocol

En las fórmulas estructurales del α-tocoferol y del α-tocotrienol se resaltan, con fondo gris, los grupos metilo (-CH_3) que diferencian las formas beta (β), gama (γ) y delta (δ) de estas moléculas. Dichas diferencias se muestran con detalle en el cuadro inferior derecho. También se resaltan en fondo gris los tres carbonos asimétricos (2, 4' y 8') del α-tocoferol que definen los centros quirales de la molécula. Con relación a cada uno de estos centros quirales, la molécula puede estar en configuración R o S, permitiendo la existencia de ocho estereoisómeros (RRR, RRS, RSS, RSR, SRR, SSR, SRS y SSS). El estereoisómero RRR-α-tocoferol, de ocurrencia natural, tiene la mayor actividad biológica en ratas. Los cuatro estereoisómeros con configuración R en el átomo de carbono 2 (Rxx) tienen mayor actividad biológica que los de la configuración S (Sxx).

de los lípidos de membrana vía GPx, y facilitando la retención de vitamina E en el plasma. La vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza, pero las fuentes más ricas son aceites vegetales, particularmente del germen de cereales, además de huevos e hígado.

Funciones de la vitamina E

Los tocoferoles son los únicos, entre las vitaminas, que actúan primariamente como antioxidantes, o sea que ellos no sirven como cofactores ni están envueltos de forma directa como factores específicos en la regulación celular. Primariamente esa vitamina protege los ácidos grasos insaturados de la capa fosfolipídica de la membrana celular. La fracción quinona de los tocoferoles es capaz de desactivar radicales libres, como los radicales de hidrógeno (H^+), radicales superóxido ($^{\bullet}O_2^-$), radicales hidroxilo ($^{\bullet}OH$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y otros radicales derivados de lípidos. Las membranas celulares contienen vitamina E en la concentración de 1 mg a cada 5-10 g de lípidos de membrana, una concentración suficiente para retardar la oxidación de esas membranas. La vitamina E actúa como un agente eliminador de los radicales libres a costa de su depleción. Entre más grasa insaturada contenga la dieta, más vitamina E va a ser utilizada, pudiendo precipitar deficiencia. Los tocoferoles, antes de ser absorbidos, integran micelas en el intestino. Después de la absorción la vitamina E es transferida a la circulación linfática asociada a los quilomicrones, de modo similar a lo que ocurre con otras vitaminas liposolubles. La vitamina E penetra en la célula a través de receptores de membrana para LDL. Una vez en la célula, la vitamina se incorpora a la membrana lipídica. En torno del 40 % de la vitamina E es encontrada en las membranas nucleares y 60 % se divide entre las membranas lisosomales, mitocondriales y otras.

La vitamina E, como compuesto antioxidante, está asociada al aumento de la respuesta inmune por mantener la integridad estructural y funcional de las células del sistema inmune y estimular la síntesis de anticuerpos (IgG). El tocoferol también participa en mantener la estabilidad de los eritrocitos, mejorar la calidad de la carne y la cicatrización, y desempeña un papel decisivo en la resistencia a infecciones virales. Macrófagos y neutrófilos tienen actividad fagocítica disminuida en animales con deficiencia de vitamina E. Varios estudios relacionan la vitamina E al selenio, y esta asociación se mostró benéfica. Algunos trabajos muestran que el uso concomitante de estos compuestos disminuye la incidencia de retención de membranas fetales en vacas lecheras, así como la ocurrencia de mastitis. El sinergismo existente se debe al hecho de que ambos actúan contra los peróxidos en el organismo animal. La vitamina E actúa previniéndolos y el selenio destruyéndolos.

El selenio obra como cofactor y parte integrante de la enzima GPx, uno de los sistemas que actúan contra la oxidación. La vitamina E está en la primera línea de defensa ante la oxidación lipídica. El selenio, como parte de la GPx, está en la segunda línea de defensa antioxidante y los aminoácidos sulfurados aparecen en la tercera línea de defensa como precursores de la GPx. Consecuentemente, enzimas como superóxido dismutasa y catalasa y otros sistemas de defensa contra la oxidación pueden moderar la necesidad por vitamina E. La vitamina C también actúa como antioxidante por regenerar la forma reducida del α-tocoferol: en el proceso de inhibición de la oxidación de ácidos grasos, el tocoferol es oxidado a radical libre de tocoferol y el ácido ascórbico puede donar un electrón a este radical para regenerar la forma antioxidante (reducida) del tocoferol.

Deficiencia de vitamina E

La deficiencia de vitamina E muestra una gran variedad de signos clínicos en las diferentes especies. El grado de severidad de la deficiencia depende de la ingestión de ácidos grasos poliinsaturados y la disponibilidad de selenio, antioxidantes y aminoácidos sulfurados. La distrofia muscular nutricional es un síndrome común en todas las especies cuando hay deficiencia de vitamina E; también llamada degeneración de Zenker, en ella ocurren lesiones en los músculos esqueléticos y cardíacos, así como sustitución del tejido muscular por conectivo, originando estrías blancas en las fibras musculares. Esta condición responde al tratamiento con vitamina E/selenio. En rumiantes el trastorno se conoce como enfermedad del músculo blanco, ocurre en animales jóvenes primariamente por deficiencia de selenio, pero influenciado por el estatus de vitamina E. Esta enfermedad puede presentarse en animales neonatos o en la edad de 3 a 4 semanas en corderos y de 1 a 4 meses en terneros. Se caracteriza por debilidad y deterioro muscular, dificultad para estar en pie y amamantar (los músculos de la lengua pueden ser afectados). La muerte ocurre si hay daño severo en

el miocardio. Factores estresantes como transporte o movimiento extenuante, o cambios bruscos en la alimentación, pueden precipitar el trastorno. Aunque la enfermedad sea más descrita en animales jóvenes, también afecta a los adultos con deficiencia de vitamina E/selenio, ocasionando miopatía degenerativa, aborto, muerte neonatal y síndrome de vaca caída.

La relación entre la vitamina E y la reproducción adquirió interés debido a los primeros relatos de que la deficiencia de esta vitamina afectaba esa función en ratas machos y hembras. Sin embargo, en otras especies no han sido encontradas evidencias de dicha relación, salvo en casos de menor toxicidad de gosipol en toros. El gosipol es un polifenol encontrado en la harina de algodón (semillas), que tiene efectos tóxicos sobre la reproducción, causando azoospermia. Suplementación de vitamina E fue efectiva en la prevención de retención de placenta en vacas. La deficiencia de vitamina E también ocasiona mayor sensibilidad de los eritrocitos a peróxidos y el aparecimiento de membranas celulares anormales. Por este motivo, el test de hemólisis *in vitro* es considerado un indicador de deficiencia de vitamina E. Necrosis hepática y síndrome mastitis-metritis-agalactia han sido relatadas en cerdos por deficiencia de vitamina E/selenio. En pollos la deficiencia de vitamina E puede resultar en diátesis exudativa, un edema subcutáneo severo causado por aumento de la permeabilidad capilar, encefalomalacia ('enfermedad del pollo loco') que resulta de hemorragia y edema del cerebelo, muy influenciada por la cantidad de ácido linoleico en la dieta, y distrofia muscular.

Toxicidad de la vitamina E

La vitamina E, comparada con las vitaminas A y D, es relativamente no tóxica. Sin embargo, una hipervitaminosis E puede tener efectos deletéreos. En varias especies animales son indicados niveles máximos tolerables de 1.000 a 2.000 UI/kg en la dieta. En aves los efectos tóxicos de un exceso de vitamina E están relacionados con tasa de crecimiento reducida, anemia, reticulocitosis, aumento del tiempo de protrombina y reducida concentración de calcio y fósforo en los huesos.

Oxidación y antioxidantes

La oxidación es parte fundamental de la vida aeróbica y el metabolismo celular, produce radicales libres de forma natural. Se puede decir que es el precio que el organismo paga por mantener la energía necesaria para la vida. En el organismo los radicales libres están presentes en producción de energía, fagocitosis, regulación del crecimiento celular, señalización intercelular, inmunidad y defensa celular, y síntesis de sustancias biológicas. Esto significa que los radicales libres tienen un aspecto positivo, además de ser un subproducto de la obtención de energía, pues son sustancias que atacan células extrañas al organismo, como bacterias y virus.

Los radicales libres tienen un electrón desemparejado en los átomos de oxígeno, denominados ERO (especies reactivas de oxígeno, en inglés ROS). No obstante, cuando se hallan en exceso las ERO pueden causar efectos perjudiciales, como peroxidación de los lípidos de membrana y agresión a las proteínas de los tejidos y las membranas, a las enzimas, carbohidratos y al DNA. La producción de las ERO está elevada en las lesiones tisulares causadas por traumas, infecciones, parásitos, radiaciones, hipoxia, toxinas y ejercicios extremos. El estrés oxidativo es un término que designa el aumento indeseado de las ERO y se encuentra relacionado con diversas patologías, como artritis, choque hemorrágico, enfermedades cardíacas, sepsis, mastitis, enteritis, neumonía y enfermedades respiratorias. La mitocondria es la principal fuente generadora de radicales libres, por medio de la cadena transportadora de electrones, durante la producción de ATP a partir de la oxidación de sustratos energéticos y la reducción del O_2 en agua (**Figura 8.5**).

Las principales ERO son radicales, como hidroxilo ($^{\bullet}OH$), ion superóxido ($^{\bullet}O_2^-$), peroxilo ($ROO^{\bullet}$) y alcoxilo ($RO^{\bullet}$), y no radicales (sin electrones desemparejados), como oxígeno *singlet* ($^1O_2$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El radical hidroxilo ($^{\bullet}OH$) es el más deletéreo de los ERO al organismo por tener alta reactividad y, consecuentemente, poseer vida media corta, lo que dificulta su remoción *in vivo*. Se forma en el organismo principalmente por dos mecanismos (**Figura 8.6**): reacción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) con metales de transición y homólisis del agua por exposición a la radiación ionizante. Causa daños a DNA, RNA, proteínas, lípidos y membranas celulares.

En los aminoácidos y proteínas el radical puede reaccionar en la cadena lateral, donde ataca

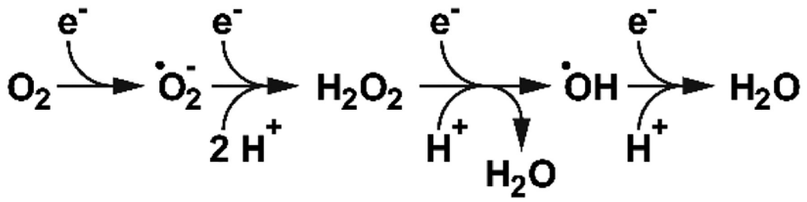


Figura 8.5 Reducción del oxígeno molecular para rendir agua durante la cadena de transporte de electrones

A una molécula de O_2 se adicionan sucesivamente electrones (e^-) y protones (H^+) hasta la formación de agua. $^{\bullet}O_2^-$, radical superóxido; H_2O_2, peróxido de hidrógeno; $^{\bullet}OH$, radical hidroxilo.

preferencialmente cisteína, histidina, triptofano, metionina y fenilalanina, generando daños con consecuente pérdida de actividad enzimática, dificultades en el transporte activo a través de las membranas celulares, citólisis y muerte celular. La forma más deletérea del oxígeno para el organismo es el *singlet* ($^1O_2$), una forma excitada de oxígeno molecular que no posee electrones desemparejados en su última capa. Puede actuar de forma benéfica, en la defensa contra la infección, cuando la bacteria estimula los neutrófilos para producir ERO con la finalidad de destruir el microorganismo. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se genera *in vivo* por la dismutación del anión radical superóxido ($^{\bullet}O_2^-$) por enzimas oxidasas, o por la β-oxidación de ácidos grasos. El peróxido de hidrógeno es poco reactivo frente a las moléculas orgánicas en ausencia de metales de transición. No obstante, ejerce papel importante en el estrés oxidativo por ser capaz de trasponer fácilmente las membranas celulares y generar radical hidroxilo. En el organismo los metales de transición más importantes para que ocurra esa reacción son Cu^{1+} y Fe^{2+}. El peróxido de hidrógeno es utilizado por los fagocitos del organismo para combatir virus, bacterias y otros cuerpos extraños, aunque presenten también efectos deletéreos a las moléculas biológicas. El radical superóxido ($^{\bullet}O_2^-$), al contrario de la mayoría de los radicales libres, es inactivo, y su reacción principal es la dismutación, en la cual se produce una molécula de peróxido de hidrógeno y una molécula de oxígeno. A pesar de los efectos dañinos al organismo, el radical $^{\bullet}O_2^-$ posee importancia vital para las células de defensa, protege contra infecciones causadas por virus, bacterias y hongos, siendo producido *in vivo* por los fagocitos o por linfocitos y fibroblastos durante el proceso inflamatorio.

Los sistemas biológicos están continuamente en riesgo de sufrir daños celulares en función de los efectos tóxicos de las ERO. De esa forma, se desarrollaron sistemas de defensa antioxidante que permiten la protección contra los efectos deletéreos de los radicales libres. Esos antioxidantes son producidos por el organismo o absorbidos en la dieta, siendo definidos como cualquier sustancia que regenera el sustrato o previene significativamente su oxidación. Son conocidos tres sistemas enzimáticos antioxidantes (**Figura 8.6**): (i) enzima superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la dismutación del radical anión superóxido $^{\bullet}O_2^-$, convirtiéndolo en O_2 y H_2O_2. Existen dos formas de la SOD en el organismo: una que contiene Cu^{2+} y Zn^{2+} como centros *redox* y ocurre en el citosol, y otra que contiene Mn^{2+} como centro *redox*; (ii) enzima catalasa que actúa en la dismutación del H_2O_2 en O_2 y H_2O, con participación de la coenzima NAPH; (iii) sistema del glutatión (GSH), el cual actúa en conjunto con dos enzimas, la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GR). La primera es una selenioenzima, denotando la importancia de este mineral y su actuación como antioxidante en el organismo. El sistema glutatión cataliza la dismutación del H_2O_2 en O_2 y H_2O, operando en ciclos entre su forma oxidada y reducida.

Otros compuestos antioxidantes son los carotenoides, el ácido ascórbico, el α-tocoferol, la ubiquinona, el ácido úrico, la bilirrubina y los flavonoides. Los carotenoides actúan *in vivo* como desactivadores del O_2 *singlet* o como secuestradores de los radicales peroxilo, reduciendo la oxidación del DNA y los lípidos, que está asociada a enfermedades degenerativas; entre ellos, el β-caroteno es la más importante fuente de vitamina A, y forman un tipo raro de agentes reductores biológicos.

El ácido ascórbico es agente reductor y puede preservar la oxidación de varios antioxidantes, entre ellos la vitamina E. El α-tocoferol es el principal antioxidante liposoluble en las membranas celulares, responde por la remoción de los radicales libres en la membrana eritrocitaria y desempeña importante papel en inhibir la propagación de la lipoperoxidación, actuando así en la prevención de la hemólisis por mantener la estabilidad de las membranas. La ubiquinona posee gran poder oxidante a través del secuestro de los radicales libres y en la desactivación del radical anión superóxido. El ácido úrico es la principal forma de excreción de nitrógeno en aves y reptiles; en los mamíferos es un producto secundario de excreción, derivado de las bases purínicas. Se encuentra en la mayoría de los tejidos, en forma de anión urato, un antioxidante efectivo en los sistemas biológicos, capaz de proteger el DNA y los lípidos de las ERO mediante la reacción con los radicales peroxilo ($ROO^{\bullet}$). Además, es capaz de recuperar estructuras ya atacadas que se volvieron radicales libres, y es responsable de estabilizar el ascorbato. Tanto la biliverdina como la bilirrubina, productos del catabolismo del grupo hemo, poseen propiedades antioxidantes. La actividad antioxidante de la bilirrubina ocurre sobre todo cuando se encuentra ligada a la albúmina plasmática. Los flavonoides son sustancias polifenólicas, pigmentos naturales ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas. Ya han sido identificados más de 5.000 flavonoides. Poseen uno o más núcleos aromáticos, conteniendo sustituyentes hidroxilados y derivados funcionales, como ésteres, glucósidos y otros. Los flavonoides han presentado importancia farmacológica en función del descubrimiento de sus efectos antitumorales, antiinflamatorios, antioxidantes, antivirales y antimicrobianos.

Además del oxígeno, el nitrógeno también participa en la estructura de los radicales libres, en especial el óxido nítrico (NO_2). Entre sus principales funciones se destacan la regulación de la presión arterial y la señalización intercelular. Su efecto tóxico, como radical libre, puede llevar a lesión tisular en procesos inflamatorios crónicos. El NO_2 es sintetizado a partir de la arginina por acción de la enzima óxido nítrico sintetasa, presente en el endotelio y los macrófagos. El NO_2 promueve vasodilatación con reducción de la resistencia periférica, inhibe la agregación plaquetaria y desempeña un papel importante en el síndrome de lesión por isquemia-reperfusión.

Vitamina K (menaquinona)

La vitamina K existe en diversas formas (**Figura 8.7**), por ejemplo, en las plantas como filoquinona (vitamina K_1) y en las bacterias de la flora intestinal como menaquinona (vitamina K_2). Para fines terapéuticos está disponible un derivado sintético, la menadiona (vitamina K_3). Gran parte de la vitamina K es sintetizada por bacterias intestinales, y varias especies animales consiguen incorporar esta vitamina mediante coprofagia. Los microorganismos ruminales sintetizan grandes cantidades de vitamina K, de forma que los rumiantes no necesitan de fuentes externas. Dietas de

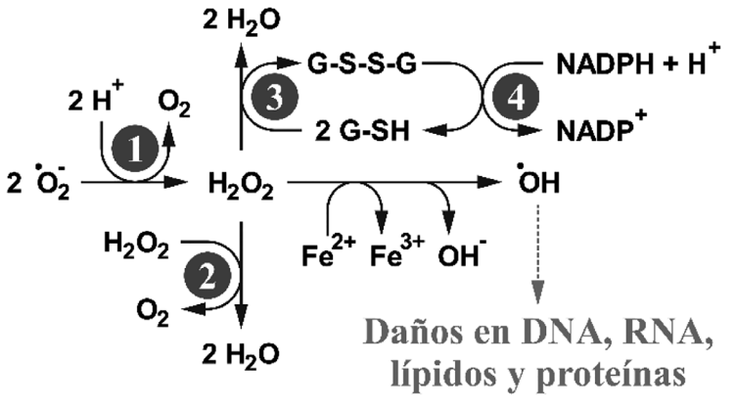


Figura 8.6 Formación de las especies reactivas de oxígeno (ERO) y acción de los antioxidantes

Las enzimas participantes son: [1] superóxido dismutasa (SOD), [2] catalasa, [3] glutatión peroxidasa y [4] glutatión reductasa. $^{\bullet}O_2^-$, radical superóxido; $^{\bullet}OH$, radical hidroxilo; OH^-, ion hidróxido; G-SH, glutatión reducido; G-S-S-G: glutatión oxidado. (Consultar la Figura 5.9 para detalles de la estructura y función del glutatión).

pollos y cerdos son regularmente suplementadas con menadiona, pero la necesidad de suplementación en la dieta para otras especies es motivo de controversia. Los pollos no consiguen suficientes cantidades de menaquinona a partir de la síntesis microbiana intestinal. Aproximadamente la mitad de la vitamina K del organismo, principalmente filoquinona y menaquinona, está en el hígado. La menadiona, por ser más hidrosoluble, tiene distribución más amplia en todos los tejidos, siendo rápidamente excretada.

Existen compuestos antagonistas de la vitamina K, como los derivados cumarínicos (**Figura 8.8**), originados a partir de hongos contaminantes de trébol. Micotoxinas y sulfonamidas también son antagonistas de la vitamina K. El dicumarol es utilizado farmacológicamente como anticoagulante para prevenir la formación de coágulos intravasculares. La warfarina es usada como potente rodenticida. La vitamina K se encuentra en vegetales oscuros y frescos, principalmente alfalfa, coliflor, repollo verde, lechuga, brócolis y espinaca. También se encuentra en la yema del huevo, el tomate y el hígado. Los requerimientos de vitamina K son del orden de 0,5-1,0 ppm (base seca) y los rumiantes no requieren consumir esta vitamina, que es producida en cantidad suficiente por los microorganismos ruminales.

Funciones de la vitamina K

El principal papel de la vitamina K es la modificación postraduccional de varios factores de la coagulación sanguínea, donde esta vitamina sirve como coenzima en la carboxilación de ciertos residuos de ácido glutámico presentes en esas proteínas. La vitamina K es necesaria para la síntesis hepática de protrombina (factor II) y de los factores de coagulación sanguínea VII (proconvertina), IX (factor Christmas) y X (factor Stuart-Prower). Esas proteínas son sintetizadas como moléculas precursoras inactivas (**Figura 8.9**).

La formación de los factores de la coagulación requiere la carboxilación de residuos de ácido glutámico, que es dependiente de la vitamina K para formar γ-carboxiglutamato (Gla), capaz de la subsecuente activación. La protrombina, por ejemplo, posee diez residuos de Gla. Carboxilasas microsomales específicas son responsables de la formación de Gla. La reacción requiere O_2, CO_2 y vitamina K (como cofactor). Apenas la forma reducida de la vitamina K sirve como cofactor (forma hidroquinona), por tanto es necesario un sistema de reducción para la regeneración de la vitamina (forma quinona), vía vitamina K-epóxido (**Figura 8.10**).

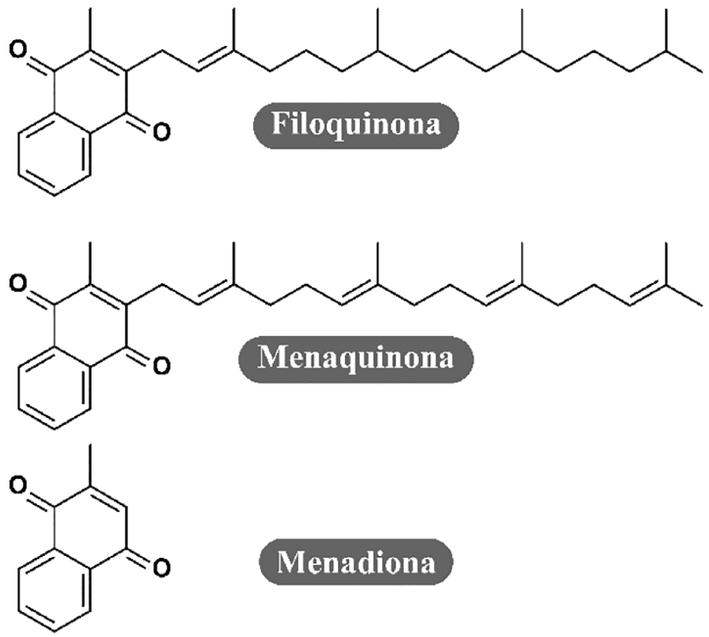


Figura 8.7 Estructuras de las vitaminas K_1 (filoquinona), K_2 (menaquinona) y K_3 (menadiona)

La vitamina K consiste en un anillo 2-metil-1,4-naftoquinona con una cadena lateral isoprenoide (ausente en la menadiona).

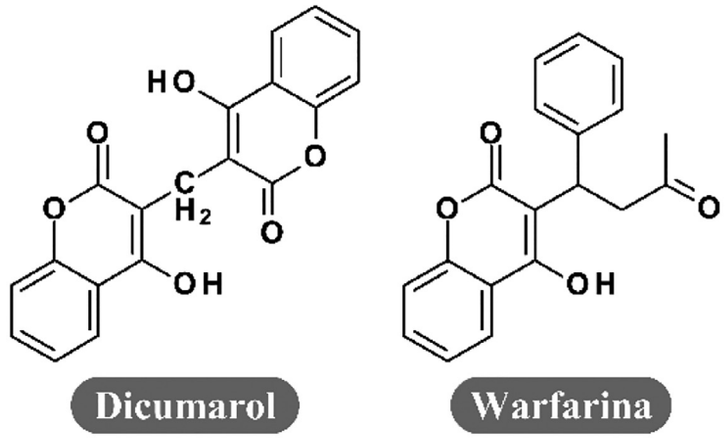


Figura 8.8 Estructuras de los anticoagulantes dicumarol y warfarina

Ambos son inhibidores competitivos de la enzima epóxido reductasa de vitamina K (enzima [2] en la Figura 8.10), disminuyendo la cantidad efectiva de vitamina K-hidroquinona (KH_2) por impedir el reciclaje de la vitamina K-epóxido (KE).

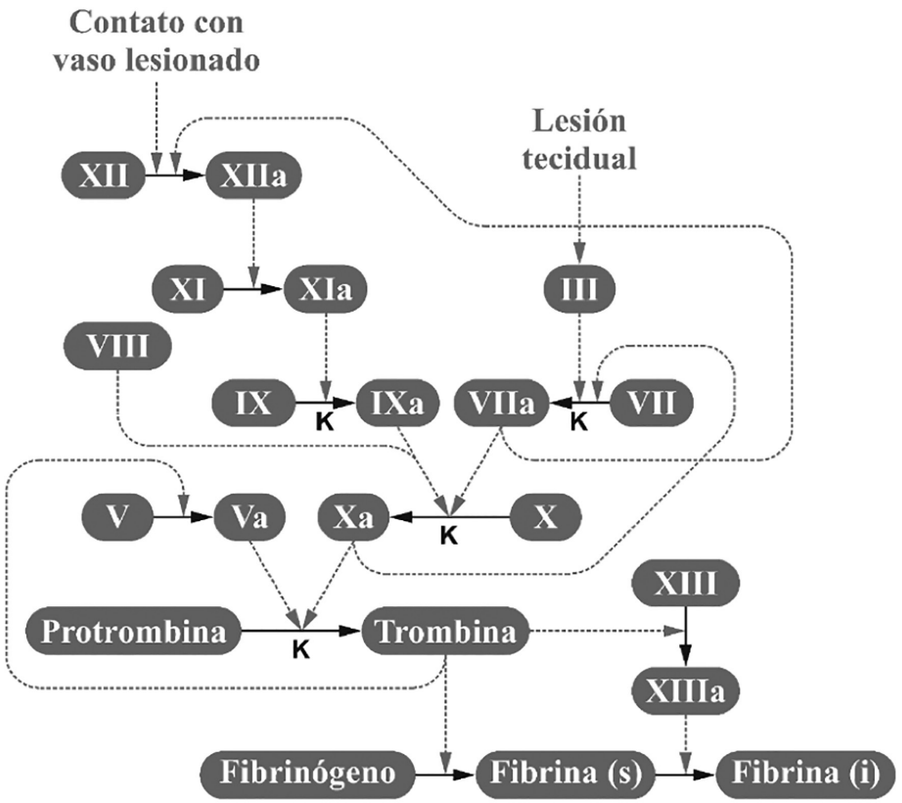


Figura 8.9 Papel de la vitamina K en el mecanismo de la coagulación

En esta representación simplificada de la cascada de la coagulación se indican las etapas que tienen participación de la vitamina K. Flechas negras continuas corresponden a la conversión de una proteína en su forma activa (a), mientras que flechas grises punteadas corresponden a las acciones de activación ejercidas. Los diferentes factores de la coagulación se indican por algarismos romanos. Fibrina (s) corresponde a la forma monomérica soluble, mientras que fibrina (i) corresponde a la forma polimérica insoluble de la fibrina. No están indicadas la participación del calcio ni las acciones de inhibición de la coagulación.

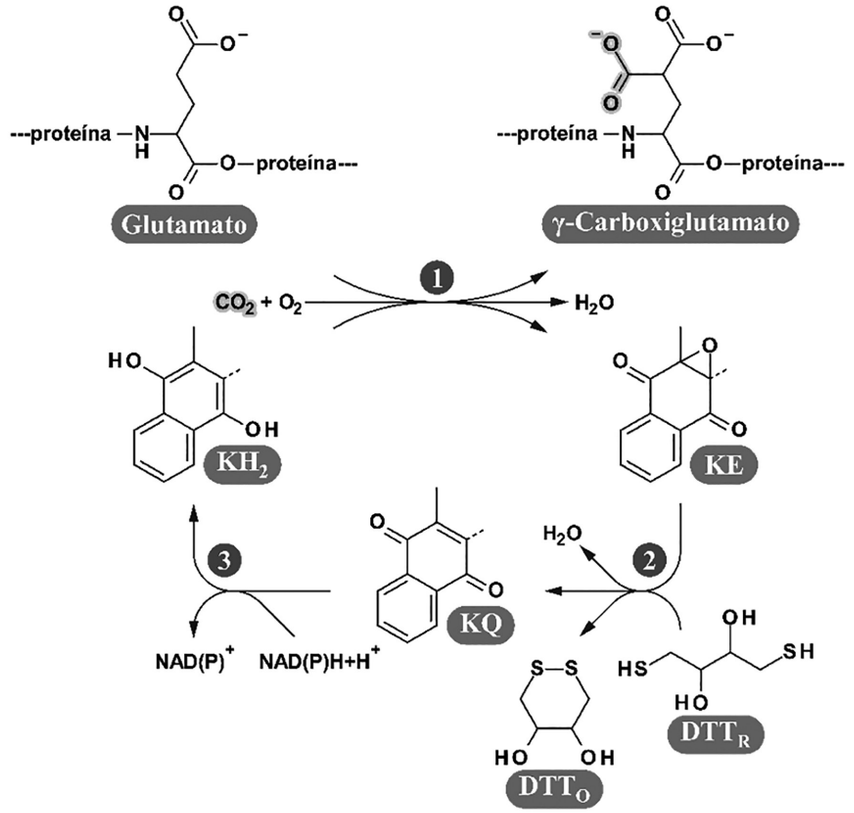


Figura 8.10 El ciclo de la vitamina K

La carboxilación de residuos de glutamato de la proteína, formando γ-carboxiglutamato, ocurre con la participación de la vitamina K-hidroquinona (KH_2), la cual provee dos átomos de hidrógeno, siendo convertida en vitamina K-epóxido (KE). Este último sufre una reacción de reducción a vitamina K-quinona (KQ) seguida de otra reacción de reducción para regenerar KH_2. Con la finalidad de simplificar la visualización, solamente el anillo 2-metil-1,4-naftoquinona de la vitamina K está representado (sin la cadena lateral isoprenoide). Las enzimas participantes son: [1] γ-carboxilasa dependiente de vitamina K, [2] epóxido reductasa de vitamina K y [3] reductasa de vitamina K.
DTT_R, ditiotreitol reducido; DTT_O, ditiotreitol oxidado.

Muchos antagonistas de la vitamina K funcionan como inhibidores de las enzimas reductasas importantes para la regeneración de la vitamina K. La formación de Gla es sensible a la inhibición por dicumarol, anticoagulante de ocurrencia natural en las células de trébol en deterioración, y por warfarina, análogo sintético de la vitamina K. La warfarina inhibe la formación de la protrombina activa, siendo usado como un potente rodenticida y una droga anticoagulante para tratar pacientes en riesgo de coagulación excesiva. Los residuos de Gla de la protrombina son quelantes de iones calcio, cargados positivamente, debido a la presencia de dos grupos carboxilato adyacentes, negativamente cargados. El complejo prototrombina-calcio es capaz de ligarse a fosfolípidos esenciales para la coagulación sanguínea en la superficie de las plaquetas. La unión a las plaquetas aumenta la tasa de conversión proteolítica de protrombina en trombina. La protrombina es una enzima proteolítica que quiebra ligaciones peptídicas en el fibrinógeno para convertirlo en fibrina, proteína fibrosa insoluble que mantiene unidos los coágulos sanguíneos. El Gla también se halla en otras proteínas, por ejemplo la osteocalcina, que actúa en la remodelación de los huesos.

Deficiencia de vitamina K

La deficiencia de vitamina K es rara, pues cantidades adecuadas son producidas por las bacterias intestinales u obtenidas por la dieta en la forma K_2 (menaquinona). El principal signo de deficiencia de vitamina K es una falla en la coagulación, que puede ser evidente por un

bajo nivel de protrombina y se manifiesta por aumento en el tiempo de coagulación (tiempo de protrombina arriba de 40 s) y por hemorragias subcutáneas e internas, a veces fatales. La deficiencia puede ser resultado de insuficiente vitamina K en la dieta, falta de síntesis microbiana en el intestino, problemas de absorción intestinal o incapacidad hepática para usar la vitamina K disponible. Si la población bacteriana disminuye, por ejemplo mediante el uso de antibióticos, la cantidad de vitamina formada endógenamente disminuye y puede llevar a hipoprotrombinemia en individuos subnutridos. Ciertas cefalosporinas de segunda generación pueden causar hipoprotrombinemia y, debido a esto, su uso generalmente está asociado a suplementación de vitamina K. La deficiencia de vitamina K suele estar asociada a síndromes de mala absorción o al uso de anticoagulantes farmacológicos. Recién nacidos poseen intestinos estériles y, al inicio, no poseen las bacterias que sintetizan la vitamina K. En rumiantes alimentados con trébol contaminado por hongos puede haber alto consumo de dicumarol que causa intoxicación hemorrágica debido al antagonismo de la vitamina K. Otra causa de deficiencia de vitamina K inducida es por el consumo accidental de warfarina, cumarina sintética usada como rodenticida. Filoquinona, así como menadiona, deben ser usadas parenteralmente para tratar animales que ingirieron warfarina y otros anticoagulantes. Algunos caballos 'sangradores, que sufren hemorragias después del ejercicio, por lo general responden a tratamiento de suplementación de vitamina K. Profilácticamente, la administración intramuscular de vitamina K puede ser indicada contra enfermedades hemorrágicas, pero no como tratamiento farmacológico en condiciones hemorrágicas.

Toxicidad de la vitamina K

Pocos peligros son atribuidos a la ingestión de vitamina K por largos períodos y en dosis de 10-100 ppm en la dieta en forma de filoquinona. Las formas naturales de vitamina K, filoquinona y menaquinona no son tóxicas en dosis elevadas. Sin embargo, la forma sintética de la vitamina K, la menadiona, en dosis de 100 ppb en la dieta puede actuar como prooxidante y su alta concentración en la dieta producir hemólisis. Dosis de menadiona de 2-8 mg/kg de peso corporal pueden ser letales en caballos, provocando signos de cólico, hematuria, azotemia y falla renal aguda. La administración prolongada de vitamina K puede producir anemia hemolítica e ictericia en animales jóvenes debido a efectos tóxicos en la membrana de los eritrocitos.

8.3 Vitaminas hidrosolubles

Tiamina (vitamina B_1)

La estructura de la tiamina (vitamina B_1) consiste en una molécula de pirimidina y una molécula de tiazol unidas por un puente metileno, que en su forma activa está unida a un grupo pirofosfato (**Figura 1.8**). Existen compuestos sintéticos que son antagonistas de la tiamina por poseer similar composición y actúan por inhibición competitiva, interfiriendo en diferentes puntos del metabolismo. Así, la piritiamina bloquea la esterificación de la tiamina con el ácido fosfórico, impidiendo la acción de la coenzima co-carboxilasa (que contiene tiamina); la oxitiamina también inhibe la acción de la co-carboxilasa y el amprolio (usado como coccidiostático) inhibe la absorción intestinal y la fosforilación de tiamina. Las plantas pueden contener antagonistas de la tiamina estables al calor, como los polifenoles, que se encuentran en algunos helechos, en el pasto festuca y en el té. Los polifenoles sirven como agentes antioxidantes, pero en el caso del antagonismo a la tiamina oxidan el anillo tiazol para producir un disulfuro no absorbible. Algunos helechos contienen tiaminasa, enzima que quiebra la estructura de la tiamina en el puente metileno produciendo tiazol y pirimidina, inactivándola. La tiaminasa también ha sido identificada en ciertos peces y los animales que los consumen pueden sufrir un trastorno neurológico conocido como parálisis de Chastek.

La tiamina es una de las vitaminas con menor capacidad de almacenamiento, por eso una deficiencia puede manifestar signos clínicos en poco tiempo. En condiciones de alimentación rutinera (cereales, hortalizas tuberosas) los animales monogástricos difícilmente tendrán deficiencia de esta vitamina, a menos que los alimentos contengan antagonistas de la tiamina (tiaminasa, ejemplo en el helecho) o sufran inactivación por el calor. La tiamina se encuentra principalmente en cereales y el maíz, en levadura de cerveza, vegetales, frutas, papa, hígado, yema de huevo y leche. Los animales rumiantes y los equinos adultos pueden obtener la vitamina B_1 a través de las bacterias del rumen o del ciego, respectivamente, mientras que conejos y ratas dependen de la coprofagia como fuente

de esta vitamina. En los rumiantes prácticamente no se consideran requerimientos de tiamina debido a su síntesis por las bacterias ruminales, aunque debe tenerse en consideración la posibilidad de deficiencia en rumiantes jóvenes que aún no tienen un rumen funcional. Requerimientos en animales monogástricos rondan 1,0 a 3,0 ppm (materia seca), siendo los felinos los que necesitan mayores cantidades. Por tener la tiamina importante participación en el metabolismo de los glúcidos el aumento de estos nutrientes en la dieta incrementa los requerimientos de la vitamina. Gestación, lactación y edad elevan los requerimientos de tiamina.

Funciones de la tiamina

La tiamina pirofosfato (TPP) o coenzima co-carboxilasa es la forma biológicamente activa de la vitamina B_1, formada por la transferencia del grupo pirofosfato del ATP para la tiamina. La TPP funciona como coenzima en la descarboxilación-oxidación del piruvato, para su conversión en acetil-CoA, lo que posibilita su entrada en el ciclo de Krebs. En este mismo ciclo la TPP actúa en la descarboxilación del α-cetoglutarato formando succinil-CoA. Estas dos reacciones son esenciales para la producción de energía, por tanto son de vital importancia en el tejido nervioso. En la deficiencia de tiamina la actividad de esas dos reacciones de descarboxilación/oxidación está disminuida, lo cual ocasiona menor producción de ATP y, consecuentemente, perjuicio en la función celular.

La TPP también actúa como coenzima en la formación o degradación de α-cetoles por la transcetolasa, en la vía de las pentosas fosfato. La vitamina B_1 es importante en la síntesis de ácidos grasos y colesterol, y participa directamente en la excitación de los nervios periféricos. La falla en la síntesis de esos lípidos para la estructura de las membranas de las células nerviosas parece ser la causa de los cambios degenerativos que se observan en la deficiencia de tiamina. Esta vitamina funciona además en la manutención del apetito y del tono muscular. La vitamina B_1 asimismo es recomendada para la manutención, el crecimiento y la reproducción de los animales. La TPP parece desempeñar un importante papel en la transmisión del impulso nervioso: la coenzima se localiza en las membranas periféricas de las neuronas, siendo requerida en la biosíntesis de acetilcolina y en las reacciones de translocación de iones en la estimulación nerviosa. También ha sido postulada la acción de la tiamina en la síntesis de insulina.

Deficiencia de tiamina

El clásico signo de la deficiencia de tiamina (beriberi en humanos y polineuritis en aves) es alcanzado en el estadio final de deficiencia, probablemente debido a la acumulación de intermediarios del catabolismo de glúcidos en el tejido nervioso, explicado por la dependencia de la glucosa para la obtención de energía en esos tejidos. El conocimiento de la acción bioquímica de la TPP no explica de forma clara, sin embargo, otros signos derivados de su deficiencia: pérdida del apetito, constipación, náusea, depresión, irritabilidad y fatiga. Deficiencia de moderada a severa causa confusión mental, ataxia (andar tambaleante y disfunción motora) y oftalmoplejia (pérdida de la coordinación ocular). Deficiencia severa causa beriberi en humanos y polineuritis en aves (más sensibles son los pollos y las palomas), enfermedades caracterizadas por acúmulo de fluidos (edema) en el sistema neuromuscular, dolor, atrofia y debilidad muscular, parálisis y muerte. También puede ocurrir falla cardíaca congestiva. En humanos la deficiencia de tiamina se observa en desnutrición avanzada, alimentación exclusiva a base de arroz pulido y alcoholismo crónico.

La tiamina es inestable al calor y a medios alcalinos; puede ocurrir su destrucción en varias etapas del procesamiento y la conservación de los alimentos, al igual que por tiaminasas presentes en la carne de algunos pescados y en el proceso de fermentación por algunas bacterias. La deficiencia de tiamina fue observada en zorros alimentados con pescado crudo y en gatos alimentados tanto con pescado crudo como con comida enlatada. Raciones enlatadas preservadas con metabisulfito de sodio también causaron deficiencia de tiamina en felinos. El llamado 'síndrome de mortalidad precoz' es una enfermedad no infecciosa que afecta la trucha de lago y otros salmónidos, asociada a la deficiencia de tiamina. En herbívoros la deficiencia de tiamina puede ocurrir a partir de la ingestión de *Marsilea drummondii* o el helecho *Pteridium aquilinum*. La característica más predominante de dicha deficiencia es la poliencefalomalacia con signos de andar en círculos, convulsiones, ceguera y postura de la cabeza en opistótonos. Han sido establecidas

cuatro condiciones para diagnosticar la ocurrencia de poliencefalomalacia: (1) dieta con alto contenido energético; (2) aumento de piruvato y lactato sanguíneos (cuatro-cinco veces de lo normal) y disminución de actividad transcetolasa eritrocitaria; (3) respuesta positiva a tratamiento con tiamina, y (4) lesiones cerebrales de necrosis cortical bilateral a la necropsia. La suplementación con grandes cantidades de melaza puede causar lo que se conoce como 'toxicidad a la melaza', en la cual ocurren signos clínicos similares a la poliencefalomalacia.

Toxicidad de la tiamina

Gran ingestión o administración parenteral de tiamina no produce efectos tóxicos una vez la vitamina sea rápidamente excretada por el riñón; no obstante, repetidas y grandes dosis parenterales pueden causar reacción anafiláctica, con signos como convulsiones, parálisis, arritmia cardíaca y respiratoria, y depresión.

Riboflavina (vitamina B_2)

La riboflavina (vitamina B_2) consiste en un núcleo de dimetilisoaloxazina unido al ribitol a través de un grupo alcohol. Las dos formas biológicamente activas de la vitamina B_2 son flavina mononucleótido (FMN) y flavina adenina dinucleótido (FAD), cuyas estructuras constan en la **Figura 1.7**. FMN y FAD son capaces de aceptar reversiblemente dos átomos de hidrógeno, formando $FMNH_2$ o $FADH_2$ (**Figura 8.11**). FMN y FAD se unen fuertemente, algunas veces de forma covalente, a flavoenzimas que catalizan la oxidación o la reducción de un sustrato. En los alimentos ingeridos, FMN y FAD son hidrolizados en la parte superior del intestino para liberar la riboflavina. La riboflavina es absorbida por procesos activos y transportada por la sangre a los tejidos-blanco en asociación con albúmina. Una vez en la célula, la riboflavina es convertida en FMN utilizando un ATP en reacción catalizada por la enzima flavoquinasa. Después, el FMN se combina con una segunda molécula de ATP para formar FAD en reacción catalizada por la enzima FAD pirofosforilasa. La orina es la principal vía de excreción de la riboflavina y del FMN, aunque FAD puede ser excretado en la bilis. La forma libre de la riboflavina constituye menos del 5 % de las flavinas en el organismo, mientras que del 70 % al 90 % está en la forma de FAD. Los requerimientos de riboflavina no son considerados en rumiantes por causa de su síntesis microbiana ruminal y en los monogástricos son del orden de 2,0 a 4,0 ppm (materia seca). Fuentes de riboflavina se encuentran en las plantas verdes, levaduras, hongos y algunas bacterias.

Funciones de la riboflavina

Las formas activas de la riboflavina, principalmente el FAD, participan como activadores de más de cien enzimas que catalizan reacciones de oxidación-reducción. FMN y FAD actúan como grupos prostéticos (no proteicos) de muchas flavoenzimas. Su participación en el metabolismo es fundamental para la oxidación de sustratos y generación de energía (ATP), presentando alternativa oxidación y reducción. Algunas flavoenzimas contienen metales (Fe, Mo, Cu, Zn) que participan en reacciones de transferencia de electrones. Las cuarenta flavoenzimas conocidas han sido clasificadas en tres grupos: (1) $NADH_2$ deshidrogenasas que tienen como sustrato NAD reducida y como receptor de electrones enzimas del sistema citocromo, en la cadena de transporte de electrones, fundamental en la generación de ATP; (2) oxidasas que aceptan electrones de sustratos reducidos y los transfieren al oxígeno para después reducir el O_2 a H_2O_2; (3) deshidrogenasas que aceptan electrones de sustratos reducidos y los transfieren al sistema citocromo. La riboflavina participa como factor esencial en el metabolismo de los aminoácidos, siendo parte de las oxidasas que oxidan α-aminoácidos y los convierten en su correspondiente α-cetoácido, liberando amonio. Una FMN oxidasa es necesaria para la conversión de piridoxina fosforilada (vitamina B_6) en una coenzima funcional. Esto significa que una deficiencia de riboflavina puede también causar deficiencia de vitamina B_6. La riboflavina desempeña función importante en la absorción intestinal de hierro. La riboflavina es necesaria en el metabolismo de los ácidos grasos, tanto para la oxidación (FAD acil-CoA-deshidrogenasa) como para la síntesis a partir de acetato (FMN flavoproteína). Parece que la riboflavina es necesaria para la regeneración de glutatión reducido en los eritrocitos, de forma que su deficiencia torna las membranas eritrocíticas más vulnerables al estrés oxidativo.

Deficiencia de riboflavina

Tanto los humanos como los animales no pueden sintetizar riboflavina en los tejidos; deben, por tanto,

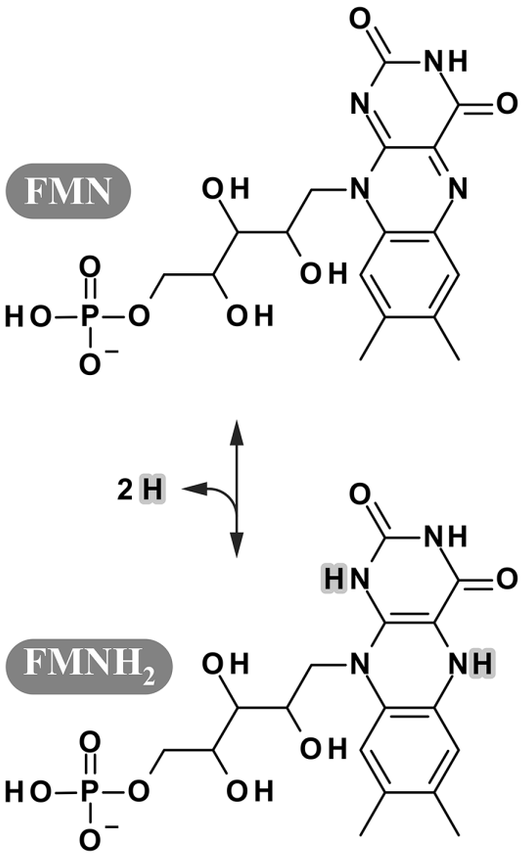


Figura 8.11 Reacción reversible de reducción de la flavina-mononucleótido (FMN) a $FMNH_2$

La flavina-adenina-dinucleótido (FAD) participa en reacción semejante, con la formación reversible de $FADH_2$.

ingerirla en la alimentación o adquirirla por síntesis microbiana intestinal. En este sentido, los rumiantes son mucho más eficientes que los monogástricos, no precisan de requerimientos nutricionales porque los microorganismos del rumen sintetizan cantidades adecuadas de riboflavina. Los lactantes en general no sufren esta deficiencia, pues la leche constituye una buena fuente de riboflavina. En todas las especies la deficiencia se manifiesta por una tasa de crecimiento disminuida, inflamación de la mucosa oral, pérdida de pelo y producción excesiva de lágrimas y saliva. Otros signos incluyen anorexia, diarrea, dermatitis, queilosis (fisuras en la comisura labial) y glositis (la lengua parece lisa y púrpura). Las dietas típicas suministradas a cerdos y pollos, principalmente a base de granos, pueden ser marginales en deficiencia de riboflavina. Cerdos jóvenes en crecimiento son más vulnerables y presentan anorexia, bajo crecimiento, pelo áspero, alopecia y cojera; ocasionalmente también acompañan neutrofilia y disminución de la respuesta inmune. En las cerdas la deficiencia de riboflavina se manifiesta con fallas reproductivas. En pollos aparece una típica condición denominada 'parálisis de dedos torcidos', en casos de severa deficiencia, en que el animal camina sobre los jarretes con los dedos curvados hacia dentro. También en pollos la deficiencia de riboflavina causa atraso del crecimiento, diarrea y alta mortalidad en las primeras semanas de vida. En gallinas de postura disminuye la eclosabilidad y la producción de huevos, en esta especie la medición de riboflavina en la ovoalbúmina es un excelente indicador del estatus de riboflavina (debe estar entre 2-3 ppm). El método bioquímico más adecuado para detectar deficiencia de riboflavina es medir la actividad de la FAD-enzima glutatión reductasa en los eritrocitos.

Toxicidad de la riboflavina

La riboflavina es una vitamina que tiene muy poca toxicidad. Cantidades de riboflavina en la dieta de hasta cien veces los requerimientos diarios en ratas pueden ser toleradas sin problema. Cuando dosis elevadas son suministradas por vía oral, apenas una pequeña fracción se absorbe y la mayoría es excretada por las heces. Esto ocurre porque el sistema de absorción de riboflavina vía intestinal es rápidamente saturado, además de que la capacidad para almacenar la vitamina en los tejidos es limitada. La administración parenteral de riboflavina puede alcanzar toxicidad con dosis de 600 mg/kg de peso en ratas. En esos casos ocurre anuria y acúmulo de cristales en los túbulos renales.

Niacina (vitamina B_3)

La niacina o ácido nicotínico (vitamina B_3) es un derivado sustituto de la piridina (**Figura 8.12**).

Las formas biológicamente activas de la coenzima son nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y su derivado fosforilado nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), cuyas estructuras constan en la **Figura 1.6**. La nicotinamida es rápidamente desaminada en el organismo y, de esa forma, equivale nutricionalmente al ácido nicotínico. La niacina se encuentra en cereales, granos, leche y carne, especialmente en el hígado. En rigor, la niacina no es una vitamina (compuesto esencial que necesita ser incorporado en la dieta), pues ella puede

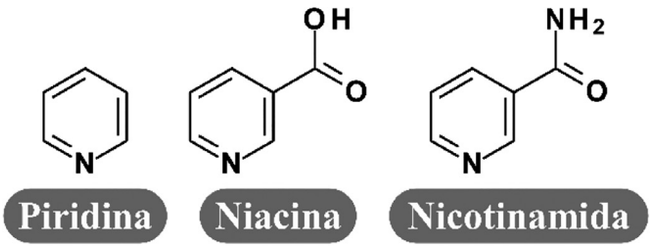


Figura 8.12 Estructuras de la niacina (ácido nicotínico) y de la nicotinamida

ser sintetizada en el organismo a partir de triptófano (Trp). No obstante, la conversión de Trp en niacina es relativamente ineficiente y solo ocurre después de que los requerimientos de Trp están cubiertos. Por otro lado, la biosíntesis de niacina necesita de tiamina, riboflavina y piridoxina. Así, en términos prácticos, tanto la niacina como el Trp son esenciales y deben estar en la dieta. Los requerimientos de niacina varían ampliamente dependiendo de la disponibilidad de Trp y la capacidad de convertir Trp en niacina. En los rumiantes no se consideran requerimientos, pues ellos obtienen la niacina por medio de síntesis microbiana ruminal, salvo en los rumiantes jóvenes y en vacas lecheras de alta producción, que requieren consumo de fuentes de niacina y Trp (6 g de niacina/vaca/día). Los caballos tampoco tienen requerimientos, pues sintetizan la niacina en las bacterias del tracto digestivo inferior y poseen buena capacidad de síntesis de niacina a partir del Trp. En las demás especies los requerimientos de niacina varían entre 20 y 40 ppm en dieta (MS).

Funciones de la niacina

La principal función de la niacina está en la formación de las coenzimas NAD y NADP, las cuales actúan en reacciones de oxidación-reducción, comprometidas en el suministro de energía dentro del metabolismo animal. En esas relaciones la coenzima sufre reducción del anillo piridina por la incorporación de un ion hidruro (átomo de hidrógeno + un par de electrones: H^-). Las formas reducidas de NAD y NADP son NADH y NADPH, respectivamente (**Figura 1.6**), que participan en por lo menos doscientas reacciones en el metabolismo de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos, de fundamental importancia, sobre todo en los tejidos cutáneo, gastrointestinal y nervioso. NAD es una coenzima receptora de electrones en las reacciones de oxidación de los nutrientes y después sirve como donadora de electrones en la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, donde se realiza la síntesis de ATP. Esto significa que NAD es un compuesto intermediario entre los procesos de oxidación, en el catabolismo de los nutrientes, y los procesos de transferencia de electrones hasta el O_2 en la producción de ATP. Muchas enzimas que participan en procesos de óxido-reducción son específicas en utilizar la coenzima NADP, como en el caso de la vía de las pentosas fosfato y en la síntesis de los ácidos grasos. Tanto NAD como NADP están involucradas en la síntesis y degradación de aminoácidos. Poli ADP-ribosa son moléculas niacina-dependientes que participan en la modificación postraduccional de proteínas nucleares. Las proteínas poli ADP-ribosiladas parecen funcionar en la reparación y replicación de DNA, así como en la diferenciación celular. La deficiencia severa de niacina puede aumentar la susceptibilidad al daño oxidativo sobre el DNA debido a poca disponibilidad de NAD.

Deficiencia de niacina

La deficiencia de niacina se caracteriza por trastornos en la piel y en el tracto gastrointestinal, con signos como pérdida de apetito, crecimiento retardado, debilidad, dermatitis, desórdenes digestivos y diarrea. Uso de dietas a base de maíz pueden ser inductoras de deficiencia por el bajo contenido de Trp y niacina en este cereal. La deficiencia de niacina causa pelagra en humanos, una enfermedad presente en la piel, el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central. Los signos de evolución de la pelagra comprenden dermatitis, diarrea, demencia y, si no es tratada, muerte. La enfermedad llamada 'lengua negra' es consecuencia de deficiencia de niacina en aves y

perros, y consiste en inflamación de la lengua y la cavidad bucal que lleva a crecimiento retardado por disminución del consumo de alimento. En los perros un signo característico es escurrir saliva gruesa y viscosa, debido a glositis y gingivitis. Deficiencia no corregida puede llevar a deshidratación severa, emaciación y muerte. Debido a prurito cutáneo, pueden desarrollar dermatitis traumática.

En el gato no ocurre síntesis de niacina a partir de Trp, siendo dependientes de la inclusión de esta vitamina en la dieta. En la deficiencia presentan signos clínicos similares a los presentados por el perro. En humanos la cantidad de NAD en los eritrocitos se considera un buen indicador del estatus de niacina. La suplementación de niacina en bovinos puede ser benéfica, principalmente en animales estresados (transporte), durante el período posparto y en vacas con cetosis subclínica.

Toxicidad de la niacina

Pueden ocurrir efectos tóxicos de niacina en niveles más allá de los requerimientos (entre diez y veinte veces). La nicotinamida es dos a tres veces más tóxica que el ácido nicotínico. Administración de elevadas dosis de ácido nicotínico en humanos pueden causar vasodilatación, prurito, sensación de calor, náusea, vómito y lesiones cutáneas. En perros, dosis de 2 g de ácido nicotínico por día producen signos de heces sanguinolentas, convulsiones y muerte.

Piridoxina (vitamina B_6)

La vitamina B_6 es un término colectivo para piridoxina, piridoxal y piridoxamina (**Figura 1.10**), todos derivados de la piridina con actividad bioquímica equivalente. Ellos difieren apenas en la naturaleza del grupo funcional unido al anillo. La piridoxina ocurre principalmente en las plantas, mientras que el piridoxal y la piridoxamina son encontrados en alimentos de origen animal. La mayoría de las dietas para animales contiene cantidades adecuadas de vitamina B_6, pero en algunas condiciones pueden ocurrir deficiencias, sobre todo en aves y cerdos. La forma coenzimática de la vitamina B_6 es el piridoxal fosfato (PLP). Los rumiantes y los equinos obtienen vitamina B_6 a partir de síntesis microbiana ruminal o intestinal, respectivamente, y los requerimientos en monogástricos son del orden de 2 a 4 ppm en la dieta (MS).

Funciones de la piridoxina

Los tres compuestos relacionados con la piridoxina pueden servir como precursores de la coenzima biológicamente activa, PLP, que funciona como una coenzima para un gran número de enzimas (en torno de sesenta), particularmente aquellas que catalizan reacciones conteniendo aminoácidos, como coenzima de reacciones de transaminación, descarboxilación y racemización de aminoácidos. La mayoría de las enzimas dependientes de vitamina B_6 son las transaminasas, las cuales usan α-cetoglutarato como el compuesto receptor de grupos amina. Las aminotransferasas son específicas para pares específicos de aminoácidos y cetoácidos (en las reacciones llamadas *ping-pong*). Ellas representan una importante conexión entre el metabolismo de aminoácidos, glúcidos, ácidos grasos, y en el ciclo de Krebs. También PLP participa en reacciones de descarboxilación no oxidativa, convirtiendo aminoácidos en sus aminas correspondientes (por ejemplo, histamina, serotonina, taurina, γ-aminobutírico, etanolamina), que actúan en eventos fisiológicos relacionados con el metabolismo hormonal y como componentes de fosfolípidos y sales biliares. Adicionalmente, la vitamina B_6 participa en las siguientes funciones: síntesis de niacina (a partir de Trp), formación de ácido δ-aminolevulínico (primer paso de la síntesis de porfirina), conversión de ácido linoleico en araquidónico, síntesis de adrenalina y noradrenalina, incorporación de hierro en el grupo hemo, transporte de aminoácidos y formación de anticuerpos.

Deficiencia de piridoxina

Dada la función en la importante actividad de la piridoxina en el metabolismo de aminoácidos y proteínas, una deficiencia lleva a menor retención de nitrógeno y pobre utilización de las proteínas de la dieta, con excesiva excreción de nitrógeno. Es posible observar retardo en el crecimiento, dermatitis, convulsiones, anemia y alopecia. La deficiencia de vitamina B_6 es rara vez vista en animales, pues la mayoría de las dietas posee adecuadas cantidades de ella. Los rumiantes y los equinos prácticamente no sufren de dicha deficiencia. No obstante, ganado estresado, por ejemplo, debido al transporte de larga distancia, puede sufrir disminución de vitamina B_6. En el caso de los equinos, a pesar de no sufrir deficiencia en condiciones normales, es recomendable suministrar

una suplementación de vitamina B_6 en situaciones de entrenamiento o intensa actividad.

En general, la deficiencia de vitamina B_6 está caracterizada por baja respuesta inmune humoral y celular. En cerdos, caninos y felinos afectados por deficiencia severa de vitamina B_6 es posible hallar signos como bajo apetito y crecimiento, anemia microcítica hipocrómica, esteatosis hepática, pelo áspero, dermatitis y edema subcutáneo. Situaciones avanzadas pueden causar degeneración de nervios periféricos, manifestada por desórdenes del movimiento, ataxia y, al final, convulsiones. En las aves es típica la postura de alas extendidas y cabeza apoyada en el piso. En deficiencia severa los pollos se vuelven excitables, con movimientos sin sentido, que terminan en convulsiones violentas y muerte, lo que hace necesaria la diferenciación con encefalomalacia. Anemia y depresión de inmunoglobulinas M y G también son signos frecuentes en aves con deficiencia de vitamina B_6. La medición en la forma fosforilada de la vitamina B_6 (PLP) en el plasma puede ser una buena herramienta diagnóstica para determinar el estatus de esta vitamina en el organismo.

Toxicidad de la piridoxina

Como las demás vitaminas del complexo B, la vitamina B_6 exhibe una toxicidad muy baja; sin embargo, dosis excesivas de vitamina B_6 pueden causar signos clínicos relacionados con el sistema nervioso periférico, tales como alteraciones de la marcha, incoordinación motora, convulsiones, parálisis y muerte. El piridoxal es dos veces más tóxico que la piridoxina o la piridoxamina.

Ácido pantoténico

Los huevos, el hígado y las levaduras son las más importantes fuentes de ácido pantoténico (vitamina B_5), aunque la vitamina está ampliamente distribuida en todos los alimentos. No se reconocen deficiencias de ácido pantoténico en rumiantes debido a su síntesis en el rumen. En monogástricos son más frecuentes las deficiencias en cerdos y aves. Los requerimientos en estas especies son del orden de 10 a 12 ppm en dieta (MS). El ácido pantoténico es una amida compuesta de ácido pantoico unido a β-alanina (**Figura 1.9**).

El ácido pantoténico puede ser encontrado en forma libre o unida, principalmente como coenzima A o como transportador de grupos acilo (ACP). Para ser absorbido en el intestino debe estar en la forma libre. En todos los tejidos el ácido pantoténico puede ser convertido en coenzima A o en otros compuestos en que la vitamina es grupo funcional. La mayoría del ácido pantoténico en la sangre se encuentra en los eritrocitos como coenzima A, pero en el plasma existe en su forma libre.

Funciones del ácido pantoténico

El ácido pantoténico es un componente de la coenzima A (**Figura 1.9**) que contiene, además del ácido pantoténico, una molécula de ADP en un extremo y una de β-mercaptoetilamina en el otro. Esta última posee un grupo tiol (SH) que constituye el sitio activo de la vitamina y actúa en la transferencia de grupos acilo. El grupo tiol de la coenzima A (CoA) transporta compuestos acilo como ésteres de tiol activados. Ejemplos de enzimas que tienen las coenzimas del ácido pantoténico como cofactor (con su respectiva forma activa) incluyen: piruvato deshidrogenasa (CoA), α-cetoglutarato deshidrogenasa (CoA), ácido graso oxidasa (CoA), ácido graso sintetasa (ACP), propionil-CoA carboxilasa (CoA) y acetil-CoA sintetasa (fosfopanteteína). Esas coenzimas participan en más de cien vías metabólicas, presentes en el catabolismo de glúcidos, proteínas y lípidos, y la síntesis de lípidos, neurotransmisores, hormonas esteroides, porfirinas y hemoglobina. La función más importante de la CoA es actuar en el transporte de ácidos carboxílicos, los cuales tienen el potencial de transferirse a otros grupos que, estando en la forma unida a la CoA, se tornan 'activos'. La forma más común es la que une el ácido acético para formar acetil-CoA, compuesto común de rutas catabólicas y anabólicas, cuya actividad fundamental se lleva a cabo en el ciclo de Krebs. La proteína transportadora de grupos acilo (ACP) reemplaza a la CoA durante el proceso de síntesis de ácidos grasos. El ácido pantoténico también estimula la formación de anticuerpos a través de la incorporación de aminoácidos en las inmunoglobulinas.

Deficiencia de ácido pantoténico

La deficiencia de ácido pantoténico produce, en general, los siguientes signos: retardo del crecimiento y en la eficiencia de conversión de alimento, lesiones en la piel, trastornos del sistema nervioso, desórdenes gastrointestinales, inhibición de la formación de

anticuerpos y disminución de la función adrenal. En cerdos es característico ocurrir desórdenes del sistema locomotor; en condiciones severas se aprecia 'paso militar o de ganso' y con el avance del problema pueden caer o sentarse en 'posición de perro'. El problema ocurre por desmielinización de los nervios braquial y ciático. En las cerdas ocurre falla en la fertilidad. En las aves la deficiencia de ácido pantoténico se caracteriza por baja producción y eclosabilidad de huevos, además de dermatitis, problemas de locomoción, anomalías en el plumaje e inflamación de los párpados, haciendo que los ojos queden pegados. En perros se observa apetito errático, pérdida de peso, baja respuesta inmune y disminución de colesterol y lípidos en la sangre.

Toxicidad del ácido pantoténico

Como la mayoría de las vitaminas del complexo B, el ácido pantoténico no presenta toxicidad conocida en dosis relativamente elevadas. En ratas se observa daño hepático con dosis de cien veces el requerimiento nutricional.

Biotina

Por muchos años se pensó que la biotina no era un compuesto esencial debido a su amplia distribución en los alimentos y a su síntesis por la microflora intestinal. No obstante, el hallazgo de lesiones en piel y pérdida de pelo en animales y personas que consumían grandes cantidades de huevo crudo llevó a identificar un compuesto antagonista de la biotina (avidina) y a revisar la esencialidad de esta vitamina. La avidina es una proteína termolábil, secretada por el oviducto de las aves, que se encuentra en la clara del huevo.

La biotina es una molécula orgánica nitrogenada con un núcleo de azufre y grupo funcional carboxílico (**Figura 1.14**). Puede existir en forma libre (biotina) o ligada a proteínas (biocitina) a través del grupo carboxilo de un aminoácido, por lo general lisina. Está presente en muchos alimentos y debe ser absorbida en la forma libre en el intestino, para lo cual cuenta con una enzima de origen pancreático e intestinal llamada biotinidasa, que rompe la unión presente en la biocitina. Rumiantes y equinos no poseen requerimientos de biotina debido a la síntesis de esta vitamina por las bacterias del tracto intestinal. En las demás especies los requerimientos rondan 0,1-0,2 ppm en la dieta (MS). Los pavos tienen mayores requerimientos que los pollos.

Funciones de la biotina

La biotina es una coenzima en las reacciones de carboxilación, en las que sirve como cargador del dióxido de carbono activado. La biotina se une covalentemente al grupo ε-amino de residuos de lisina en las enzimas dependientes de biotina. La biotina constituye un grupo prostético de varias enzimas participantes en reacciones de carboxilación. Las más importantes de esas enzimas son la piruvato carboxilasa, que cataliza la conversión del piruvato en oxalacetato y participa de forma esencial en la vía de gluconeogénesis (**Figura 8.13**); la acetil-CoA carboxilasa, que cataliza la conversión del acetil-CoA en malonil-CoA y participa en la biosíntesis de ácidos grasos (**Figura 4.10**), y la propionil-CoA carboxilasa, que produce metilmalonil-CoA, esencial en el aprovechamiento de propionato para la gluconeogénesis en los rumiantes y de ácidos grasos de número impar de carbonos en todas las especies animales. En el metabolismo de los glúcidos la biotina participa como coenzima en las siguientes reacciones: carboxilación de piruvato a oxalacetato, conversión de malato a piruvato, interconversión de succinato a propionato y conversión de oxalosuccinato a α-cetoglutarato. En el metabolismo nitrogenado la biotina participa en reacciones de síntesis proteica, desaminación de aminoácidos, síntesis de purina y metabolismo de los ácidos nucleicos. En el metabolismo de los ácidos grasos participa en la primera reacción de síntesis como coenzima de la acetil-CoA carboxilasa que convierte acetil-CoA en malonil-CoA. La biotina es requerida en la síntesis de ácidos grasos insaturados de cadena larga. En la deficiencia de biotina está comprometida la síntesis de ácido araquidónico y, por tanto, de prostaglandinas.

Deficiencia de biotina

A pesar de que la biotina es esencial para el funcionamiento normal de adrenal, tiroides, tracto reproductivo y sistema nervioso, el signo clínico más característico de su deficiencia es la dermatitis. Los casos de deficiencia son raros porque la vitamina está ampliamente distribuida en los alimentos y una gran proporción de las necesidades de biotina es suplida por las bacterias intestinales. En vacas lecheras, casos de deficiencia son relatados esporádicamente, donde se observan lesiones en los cascos debido a falla en la síntesis de proteína de la camada granular en la suela del casco. En cerdos han sido relatados casos

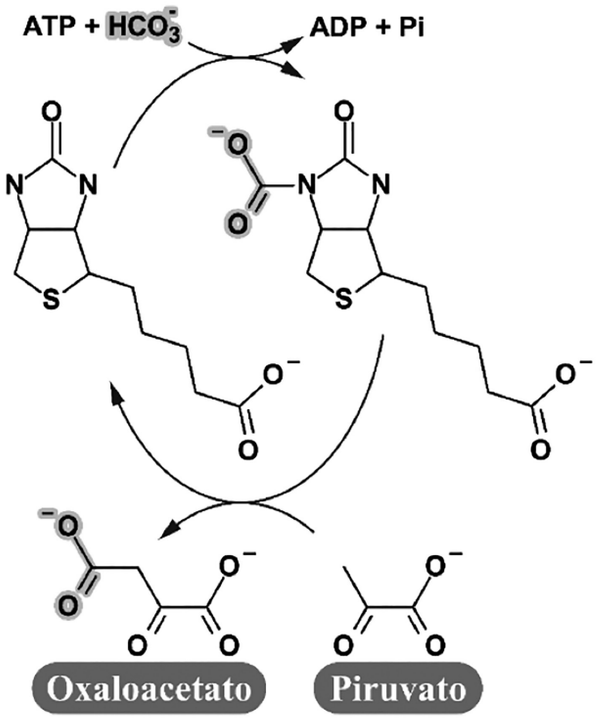


Figura 8.13 Reacción de carboxilación del piruvato dependiente de biotina

En una primera etapa la biotina se carboxila usando el ion bicarbonato y, después, el grupo carboxilo se transfiere al piruvato, formando oxalacetato.

de deficiencia de biotina por uso de sulfatalidina o clara de huevo crudo. En el primer caso por depresión de la microflora intestinal y en el segundo por efecto antagónico de la avidina sobre la biotina. También puede ocurrir deficiencia en presencia de estreptavidina, proteína proveniente de la actinobacteria *Streptomyces avidinii*, que se une a la biotina con mucha avidez, inviabilizando su utilización. La bacteria está presente en el suelo, en alimentos mohosos y en excrementos. Los signos clínicos de deficiencia de biotina en cerdos se caracterizan por alopecia, dermatitis, úlceras cutáneas, inflamación de la mucosa oral y lesiones de los cascos (rajaduras), además de crecimiento retardado y perjuicio en la conversión alimentaria. En aves los signos de deficiencia son crecimiento reducido e ineficiente conversión, además de dermatitis, problemas de plumaje (plumas quebradas), deformaciones en piernas y picos e inflamación de los párpados. Los signos en aves son similares a la deficiencia de ácido pantoténico, pero ante la deficiencia de biotina primero aparecen las lesiones en las piernas y después en pico y ojos, mientras que ante la deficiencia de ácido pantoténico aparecen primero los problemas en los ojos y solo en casos severos se observan problemas en las piernas. La deficiencia de biotina en aves puede causar perosis, signo típico cuando hay deficiencia severa de manganeso. En perros la deficiencia de biotina se manifiesta por pelo sin brillo y quebradizo, dermatitis y prurito. En gatos se observa diarrea sanguinolenta, anorexia y emaciación, además de dermatitis, alopecia e hipersalivación.

Toxicidad de la biotina

La biotina aparentemente no es tóxica, aun en grandes dosis. En cerdos y aves, especies en las que se suele suplementar esta vitamina, son indicados niveles de tolerancia de hasta diez veces los requerimientos. La suplementación de esta vitamina debe ser realizada con buen criterio, debido a ser una de las vitaminas más caras.

Ácido fólico

La deficiencia de ácido fólico (folacina) es más relatada en mujeres grávidas como factor de prevención de anemia megaloblástica, enfermedades cardiovasculares y defectos de la médula espinal en fetos, como espina bífida y anencefalia. En animales las necesidades de folacina son suplidas por los alimentos y la síntesis bacteriana intestinal. La folacina está ampliamente distribuida en los alimentos, sobre todo las carnes. Aves y cerdos pueden requerir suplementación de folacina según determinadas condiciones, como en alimentos conteniendo sulfas o granos contaminados con hongos. Las células cancerosas, debido a su rápido crecimiento, tienen mayores necesidades de folacina, hecho que motiva el uso de drogas inhibidoras de la síntesis de folacina en terapia oncológica química (metotrexate y 5-fluorouracila).

La estructura de la folacina tiene tres partes diferenciadas (**Figura 1.15**): un núcleo de pteridina, una molécula de ácido p-aminobenzoico (PABA) y una molécula de glutamato. En los alimentos naturales pueden existir de uno a nueve residuos de glutamato en su estructura. En la forma sintética existe apenas un residuo. Después de ser absorbido en el intestino, el ácido fólico es reducido a su forma activa, el tetrahidrofolato (THF o H_4folato) en los lisosomas, por la enzima H_2folato-reductasa. En la circulación,

la vitamina se encuentra como N^5-metil-H_4folato. Dentro de las células el H_4folato aparece en la forma poliglutámica, que es biológicamente más potente y es, de esa forma, almacenado en el hígado. Los inhibidores de la acción de folacina usados como drogas anticancerígenas actúan bloqueando la conversión del ácido fólico a H_4folato o bloqueando la transferencia de unidades de carbono del H_4folato a las moléculas receptoras. Los requerimientos de folacina son desconocidos para rumiantes y equinos debido a la síntesis microbiana intestinal. En las demás especies son del orden de 0,2 a 1,3 ppm en la dieta (MS), y mayor en cerdas gestantes. En todas las especies las necesidades de folacina aumentan durante la lactación y la gestación.

Funciones del ácido fólico

La forma activa del ácido fólico es el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofolato (**Figura 1.15**), el cual actúa en la transferencia de unidades de carbono en varias reacciones de síntesis de lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, hormonas y neurotransmisores.

Las unidades de C pueden ser grupos metilo, metileno y formilo. Una importante reacción es la transferencia de unidades simples de C desde la serina al THF para formar 5-metil-THF. Este compuesto suministra los grupos metilo para la homocisteína, paso necesario en la síntesis de metionina. Otras transferencias de grupos metilo son esenciales en la síntesis de purinas y pirimidinas, en la formación de ácidos nucleicos, y se resalta la importancia de la folacina en la reproducción y multiplicación celular, efecto que es más notorio en tejidos de rápido crecimiento. El THF también participa en la interconversión de serina y glicina, en la degradación de histidina y en la síntesis de grupos metilo para compuestos como metionina, colina y timina. La actividad de esta vitamina es necesaria en la hematopoyesis, en la manutención del sistema inmune y en la función exocrina del páncreas. La vitamina B_{12} está estrechamente ligada a la acción de la folacina, pues regula la proporción de grupos metilo a ser transferidos por el THF y además es necesaria para el transporte de metil THF a través de las membranas.

Deficiencia de ácido fólico

Una dieta sin folato puede causar una deficiencia en pocas semanas. El principal resultado de la deficiencia de ácido fólico es la anemia megaloblástica (macrocítica) y leucopenia, causadas por disminuir la síntesis de purinas y pirimidinas, lo que lleva a incapacidad de las células sanguíneas precursoras para producir DNA y, por lo tanto, para dividirse. Los tejidos más afectados por la deficiencia de ácido fólico son aquellos de rápida tasa de crecimiento o regeneración, como epitelio gastrointestinal, epidermis y médula ósea. En los rumiantes las bacterias ruminales suplen las necesidades de folacina. No obstante, animales jóvenes pueden sufrir deficiencias, las cuales se manifiestan por leucopenia, con predisposición a sufrir infecciones que pueden causar diarrea, neumonía y muerte. En cerdas gestantes con deficiencia de folacina ocurre mortalidad embrionaria o disminución de la camada. Las aves son tal vez la especie que más sufre con dietas deficientes de folacina, en esos casos ocurre una severa anemia megaloblástica, bajo crecimiento y poca eficiencia alimentaria, además de problemas en el plumaje, que sufre descoloración, baja producción de huevos, escasa eclosabilidad y hasta perosis. En humanos la deficiencia de folacina es la deficiencia vitamínica más común, se la halla muy asociada a condiciones de pobreza y mala nutrición.

Toxicidad del ácido fólico

La folacina es considerada una vitamina no tóxica.

Cianocobalamina

La cianocobalamina (vitamina B_{12}) posee algunas características que la hacen única entre las demás: es la más potente de las vitaminas con bajas cantidades requeridas, es sintetizada solo por microorganismos (de forma que no se encuentra en los vegetales) y tiene en su estructura un núcleo de cobalto. Los animales obtienen la vitamina preformada a partir de su flora bacteriana natural o por la ingestión de alimentos derivados de otros animales. La cianocobalamina está presente en cantidades apreciables en el hígado, la leche, los huevos, camarones frescos y carne de cerdo y aves. La estructura de la vitamina B_{12} recuerda a la de la porfirina, con cuatro núcleos pirrólicos unidos entre sí con átomos de nitrógeno en cada núcleo coordinados a un átomo de cobalto. La estructura básica tetrapirrólica aquí recibe el nombre de núcleo de corrina, acoplada abajo con un nucleótido y arriba con un cianuro, lo que le da el nombre de cianocobalamina (**Figura 8.14**). La forma activa de la vitamina B_{12} es la coenzima

B_{12} (**Figura 1.12**), que puede estar en dos formas: la cobamamida o adenosilcobalamina, en la cual el cianuro es reemplazado por la 5'-desoxiadenosina, y la metilcobalamina, en la que el cianuro es reemplazado por un grupo metilo.

La vitamina B_{12} precisa de compuestos que se unen a ella para poder ser absorbida en el intestino. Inicialmente, en el estómago, por efecto del bajo pH y las peptidasas, la B_{12} es liberada y posteriormente ligada a un factor no intrínseco, secretado por la saliva, conocido como cobalofilina. De esa forma ingresa al intestino, donde el medio alcalino y las proteasas pancreáticas liberan la B_{12} de la cobalofilina para unirse a un factor intrínseco. Insuficiencia pancreática puede causar baja absorción y deficiencia de B_{12}. El factor intrínseco es una glucoproteína secretada por las células parietales del estómago y la unión de la vitamina B_{12} a este factor es indispensable para su absorción en el íleo. Después de absorbida la vitamina B_{12} es transportada al sistema portal por otras proteínas conocidas como transcobalaminas, de las cuales han sido identificados los tipos I, II y III.

En forma sucinta, para la correcta absorción de vitamina B_{12} son necesarios los siguientes requisitos: adecuada cantidad de vitamina B_{12} en la dieta, normal función gástrica para liberar la vitamina B_{12} de las proteínas en la dieta, normal producción de cobalofilina en la saliva y de factor intrínseco en el estómago, normal función pancreática para liberar la vitamina B_{12} del factor intrínseco y normal función

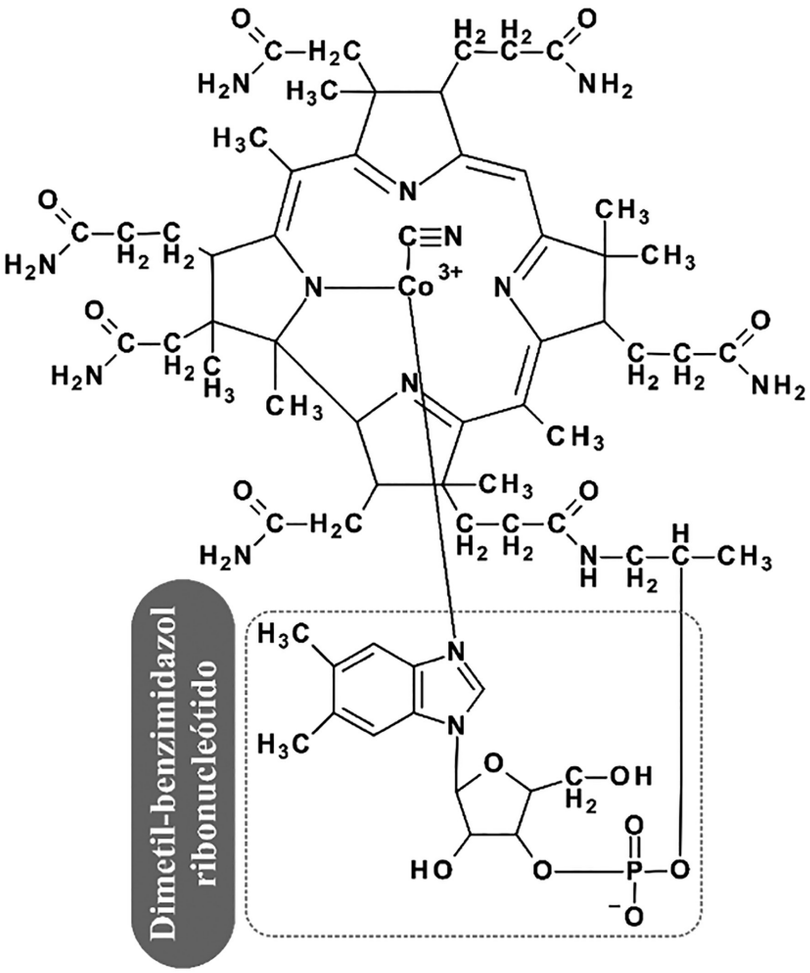


Figura 8.14 Estructura de la vitamina B_{12}

Consultar la Figura 1.12 para la estructura de la coenzima B_{12} (cobamamida).

absortiva del íleo (receptores). En los rumiantes la producción de vitamina B_{12} es garantizada por las bacterias ruminales siempre y cuando tengan fuente de cobalto. Apenas 3 % del cobalto de la dieta es convertido en vitamina B_{12} en el rumen, y del total de esta vitamina producida apenas del 1 % al 3 % es absorbida en el íleo, pero es cantidad suficiente para las necesidades del animal. El principal órgano de almacenamiento de la vitamina B_{12} es el hígado, donde también se realiza la transformación para las formas activas coenzimáticas.

Los requerimientos de vitamina B_{12} son muy bajos (del orden de ppb en la dieta), lo que la hace la vitamina más potente. Por lo general los requerimientos en animales monogástricos son de 9 a 26 ppb en la dieta (MS), siendo mayores en perros y gatos y menores en las aves. En los rumiantes es esencial la disponibilidad de cobalto en el alimento. Concentraciones de cobalto en el suelo menores de 2 ppm son consideradas deficitarias para rumiantes. Se deben prever situaciones de alta pluviosidad y rápido crecimiento de las plantas como factores que pueden diluir la cantidad de cobalto en las plantas y llegar a ser deficitario para los animales. Se sabe también que el cobalto es necesario para las bacterias fijadoras de nitrógeno en las raíces de las leguminosas.

Funciones de la cianocobalamina

La vitamina B_{12} actúa, en su forma coenzimática, en el metabolismo de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos grasos y glúcidos. En los animales la coenzima B_{12} es necesaria para la actividad de tres enzimas: metilmalonil-CoA mutasa y leucina mutasa (en la forma de adenosilcobalamina) y metionina sintetasa (en la forma de metilcobalamina). En los animales rumiantes la reacción de la metilmalonil-CoA mutasa es indispensable para la conversión del propionato (proveniente de la fermentación de glúcidos en el rumen) hasta succinil-CoA, como fuente de glucosa (ruta de gluconeogénesis, **Figura 5.16**).

Animales rumiantes con deficiencia de cobalto y, por tanto, de vitamina B_{12}, sufren de hipoglucemia y desencadenan signos de anorexia, debilitamiento y bajo desempeño. En esos casos la aplicación parenteral de vitamina B_{12} mejora el apetito en pocas horas y el suministro de cobalto vía oral lleva a mejora en siete a diez días. Esta reacción también cobra importancia en la degradación de algunos aminoácidos y en la utilización de ácidos grasos con número impar de átomos de carbono.

En la deficiencia de vitamina B_{12}, ácidos grasos anormales se acumulan y son incorporados a las membranas celulares, incluyendo las del sistema nervioso. Eso puede contribuir para algunas manifestaciones neurológicas por deficiencia de la vitamina B_{12}. Los efectos de deficiencia de cobalamina son más pronunciados en células que se dividen rápidamente, tales como el tejido eritropoyético de la médula ósea y las células de la mucosa intestinal. Esos tejidos necesitan de las formas N^5-N^{10}-metileno y N^{10}-formil del tetra-hidrofolato (THF) para la síntesis de nucleótidos, necesarios en la replicación del DNA. En la deficiencia de vitamina B_{12} la forma N^5-metil-THF no es usada de manera eficiente. Una vez que la forma metilada no puede ser convertida directamente en otras formas de THF, la forma N^5-metil se acumula, al paso que los niveles de las demás formas disminuyen. Así, puede ocurrir deficiencia de formas de THF necesarias para la síntesis de purinas y timina, resultando en signos de anemia megaloblástica (anemia perniciosa), signo característico en humanos, mas no en animales. El derivado metilo de la coenzima B_{12} es requerido en la conversión de homocisteína en metionina. Otra función importante de la vitamina B_{12} es la manutención de los grupos sulfhidrilo (SH) del glutatión en la forma reducida.

Deficiencia de cianocobalamina

En los animales no son encontrados los signos más importantes de deficiencia de vitamina $B_{12,}$ como son anemia megaloblástica (anemia perniciosa) y lesiones neurológicas, a pesar de poderse observar anemia moderada en cerdos y rumiantes. Los signos neurológicos en la deficiencia de B_{12} ocurren por deficiencia de derivados de H_4folato, necesarios en la síntesis de purinas y dTMP (por tanto de DNA). El deterioro neurológico se debe a la desmielinización progresiva del tejido nervioso. En la deficiencia de B_{12} ocurre interferencia con la formación de la mielina debido al acúmulo de metilmalonil, el cual es inhibidor competitivo del malonil-CoA, interfiriendo, por tanto, en la síntesis de esfingomielina. En humanos la deficiencia de vitamina B_{12} está relacionada con la deficiencia de factor intrínseco o dietas estrictamente vegetarianas.

En los rumiantes la deficiencia de cobalto es determinante en casos de deficiencia de vitamina B_{12}, situación conocida como 'marasmo enzoótico', caracterizado por anorexia, pelo áspero, engrosamiento de la piel, anemia, emaciación y, eventualmente, muerte, caso en el que no haya tratamiento o cambio en la alimentación. La deficiencia de cobalto ha sido asociada a fotosensibilización en corderos, situación caracterizada por cabeza hinchada, que responde a tratamiento parenteral con vitamina B_{12}. En ocasiones la deficiencia de cobalto puede llevar a cetosis e hígado graso por causa de la extrema deficiencia de energía, una vez esté bloqueada la vía gluconeogénica a partir del propionato ruminal. En cerdos la deficiencia de vitamina B_{12} lleva a anorexia, pérdida dramática del crecimiento y anemia típicamente microcítica, aunque moderada. También pueden aparecer pelo áspero, vómito y diarrea, al igual que signos neurológicos, como excitabilidad, incoordinación y vocalización. En hembras la deficiencia se manifiesta por reproducción alterada, principalmente fallas del estro, aborto, disminución de las camadas y mortalidad neonatal. En aves la deficiencia de B_{12} reduce el crecimiento y consumo de alimento, y desmejora la conversión alimentaria. También puede haber signos nerviosos y plumaje defectuoso; puede ocurrir perosis de forma secundaria debido a la falta de colina o metionina como fuentes de grupos metilo. Otros signos encontrados incluyen anemia, erosión de la molleja e infiltración de grasa en corazón, hígado y riñones. En ponederas, la eclosabilidad se ve seriamente reducida. En perros y gatos la deficiencia de B_{12} se manifiesta en especial por anemia no regenerativa, bajo crecimiento, emaciación, letargo, reproducción comprometida, y en gatos también se observa alta excreción de ácido metilmalónico. En caballos no se relata deficiencia de vitamina B_{12} debido a su síntesis por las bacterias intestinales y su posterior absorción.

Toxicidad de la cianocobalamina

La suplementación de vitamina B_{12} no representa riesgo, aun en cantidades elevadas. En rumiantes la necesidad es de cobalto más que de vitamina B_{12}, debido al proceso de síntesis de esta vitamina por las bacterias del rumen. En estos animales puede darse la necesidad de suplementación con cobalto, que no puede exceder de 5 ppm en la dieta. La toxicosis de cobalto produce policitemia moderada, respiración dificultosa y excesiva defecación, micción y salivación.

Colina

Aunque la colina no reúne las condiciones totales de una vitamina (nutriente esencial requerido en pequeñas cantidades que debe ser obtenido en la dieta), ha sido clasificada como vitamina del complejo B. Puede ser sintetizada en el hígado y es requerida en grandes cantidades, una vez que hace parte de la estructura de la mayor parte de los fosfolípidos (más que 50 %) de las membranas animales y del neurotransmisor acetilcolina. No es requerida como coenzima. La colina es un amonio ligado a tres grupos metilo que le confieren su capacidad como donadora de grupos metilo, además de estar unida a un grupo hidroxietilo. La acetilcolina es un ácido acético con ligación éster de colina y la lecitina es un fosfoglicérido con una colina unida en el C3 (**Figura 8.15**).

Aunque la colina puede ser sintetizada en los tejidos animales, principalmente en el hígado, podría no haber cantidades suficientes para cubrir las necesidades del organismo cuando sus precursores o mediadores (metionina, vitamina B_{12} y folacina) están deficitarios. La colina es sintetizada como lecitina en los tejidos por la metilación secuencial de la fosfatidil-etanolamina, con participación de una N-metiltransferasa y con S-adenosilmetionina como donador de grupos metilo. La colina puede ser obtenida en la dieta a partir del consumo de fosfolípidos que la contengan. Los requerimientos son bastante mayores que la mayoría de las vitaminas, se hallan más o menos 2.000 ppm en la dieta. La colina está presente en todos los tejidos como componente de los fosfolípidos de membrana y su liberación en las células ocurre por acción de la fosfolipasa C, que quiebra la lecitina para rendir diacilglicerol y fosfocolina. Apenas una pequeña cantidad de la colina es acetilada con acetil-CoA para producir acetilcolina, por acción de la enzima colina acetiltransferasa, presente en terminaciones nerviosas colinérgicas. La acetilcolina debe ser hidrolizada *de novo*, después del estímulo nervioso, mediante la enzima acetilcolinesterasa.

Funciones de la colina

La colina participa en las siguientes funciones: (1) en la forma de lecitina hace parte de la estructura de las membranas celulares y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que transportan triglicéridos en la sangre, además de ser factor esencial en la maduración

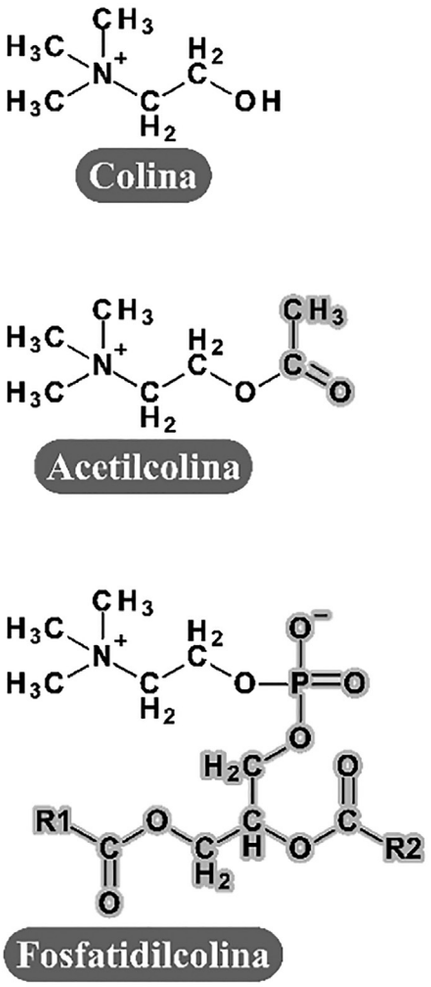


Figura 8.15 Estructuras de la colina, la acetilcolina y la fosfatidilcolina (lecitina)

Los grupos acetilo y fosfatidilo están resaltados en fondo gris. R1 y R2 representan las cadenas carbonadas de ácidos grasos.

de los cartílagos óseos; (2) es un 'factor lipotrópico', evitando la esteatosis hepática mediante la promoción del transporte de ácidos grasos en la forma de lecitina o la utilización de los ácidos grasos en el hígado; (3) es precursora de la acetilcolina, neurotransmisor del sistema nervioso parasimpático, y (4) es fuente de grupos metilo, participando en la síntesis de metionina y creatina. El envolvimiento de las vitaminas folacina y B_{12}, así como de la metionina, en el metabolismo de los grupos metilo, hace que estas sustancias puedan sustituir parcialmente las necesidades de colina. Esta última función (donador de grupos metilo) constituye el principal factor que determina la patología en casos de deficiencia de colina. Para ser fuente de grupos metilo la colina es convertida en betaína (compuesto producido por oxidación de la colina).

Deficiencia de colina

Los principales signos de deficiencia de colina incluyen bajo crecimiento, lipidosis hepática, perosis en aves, hemorragia en riñón y articulaciones, e hipertensión. La severidad de los signos clínicos está influenciada por otros nutrientes como metionina, vitamina B_{12}, folacina y lípidos. Los rumiantes obtienen gran parte de las necesidades de colina a partir de su síntesis por las bacterias ruminales, pero en ocasiones de bastante exigencia metabólica (altas tasas de crecimiento en ganado de carne y alta producción en vacas lecheras) la cantidad de colina puede no ser suficiente, siendo recomendado suplementar con hasta 750 ppm de colina en la dieta. En vacas lecheras de alta producción es común la suplementación de colina como preventivo de lipidosis hepática, aunque tenga poco o ningún efecto sobre la producción o la proporción de grasa en la leche. En cerdos la deficiencia de colina produce lechones de conformación alterada (piernas cortas y barrigones), incoordinación de movimientos, lipidosis hepática, oclusión renal y, en recién nacidos, una condición de piernas extendidas que puede ser prevenida con suplementación de colina en las hembras gestantes. Esta última condición aumenta cuando es reducida la cantidad de alimento suministrado a cerdas gestantes (de 3,2 a 1,5 kg/día), lo que resulta en menor consumo de colina y metionina. La deficiencia de colina también se manifiesta en las cerdas por baja tasa de concepción y disminución de la camada. En pollos y pavos jóvenes la deficiencia de colina causa retardo en el crecimiento y perosis, probablemente debido al papel de la colina en el proceso de maduración de los cartílagos óseos. En gallinas ponederas la suplementación de colina previene la esteatosis hepática. En caballos no se conocen evidencias sobre deficiencia de colina.

Toxicidad de la colina

Intoxicación experimental con colina puede resultar en signos clínicos como salivación, temblores, estiramiento muscular, cianosis, convulsiones y parálisis respiratoria. Suministro de colina en cantidades que doblen los requerimientos diarios (2.000 ppm) no tiene mayores efectos en cerdos, aunque puede causar efectos en pollos, tales como menor crecimiento y desmejora en la eficiencia alimentaria.

Vitamina C (ácido ascórbico)

La vitamina C es un compuesto hidrosoluble y termolábil que puede ser sintetizado por las plantas y por los tejidos de la mayoría de las especies animales, con excepción de primates, cobayo, peces, murciélagos frugívoros, insectos y algunas aves. Esas especies tienen deficiencia de la enzima gulonolactona oxidasa, que convierte L-gulonolactona en 2-ceto-gulonato, compuesto que se transforma por isomerización espontánea en ácido L-ascórbico. (Consúltese la **Figura 5.10** para detalles de la biosíntesis del ácido ascórbico). La forma activa de la vitamina C es el ácido ascórbico, que puede estar en la forma reducida u oxidada, el ácido deshidroascórbico. El anillo furano de la forma oxidada puede ser roto con la introducción de una molécula de agua, convirtiéndose en la forma inactiva, denominada ácido dicetogulónico, evento que puede ser acelerado por la luz y el calor (**Figura 8.16**). Este hecho hace de la vitamina C la más inestable de las vitaminas. Los animales domésticos no tienen requerimientos nutricionales de vitamina C, pues pueden sintetizar las cantidades necesarias; existen requerimientos apenas en aquellas especies con deficiencia de la enzima gulonolactona oxidasa.

Funciones de la vitamina C

A pesar de que la vitamina C no tiene forma coenzimática conocida, está presente en diversas reacciones. Un papel muy bien documentado es su envolvimiento en la síntesis de colágeno, proteína fibrosa componente de la piel y el tejido conectivo. La vitamina C participa en las reacciones de hidroxilación de la lisina y la prolina para producir hidroxilisina e hidroxiprolina, necesarias en la síntesis del colágeno, siendo esencial tanto para la manutención normal del tejido conectivo como para recomponer tejidos damnificados. De esa forma, la vitamina C participa en la cicatrización de heridas y fracturas y en el control de sangramientos gingivales. El requerimiento de la vitamina C en esos procesos tiene que ver con un efecto protector de la hidroxilasa, a través de la óxido-reducción de núcleos de hierro y grupos tiol presentes en la enzima. La vitamina C mantiene el estado ferroso (Fe^{2+}) del hierro unido a la enzima y mantiene los grupos tiol en su estado reducido (-SH). Además, la vitamina C facilita la absorción del hierro de la dieta en el intestino.

El ácido ascórbico tiene la capacidad de ceder y recibir electrones, lo cual le confiere un papel esencial como antioxidante, estabiliza las células mediante la protección de los lípidos de las membranas y evita su peroxidación por los radicales libres. Así, el ácido ascórbico se vuelve fundamental en la respuesta inmune del organismo. Los principales mecanismos contra el daño de los radicales libres comprenden, además de la vitamina C, el β-caroteno (vitamina A) y la vitamina E, como las principales vitaminas antioxidantes, además de las metaloenzimas glutatión peroxidasa (Se), catalasa (Fe) y superóxido dismutasa

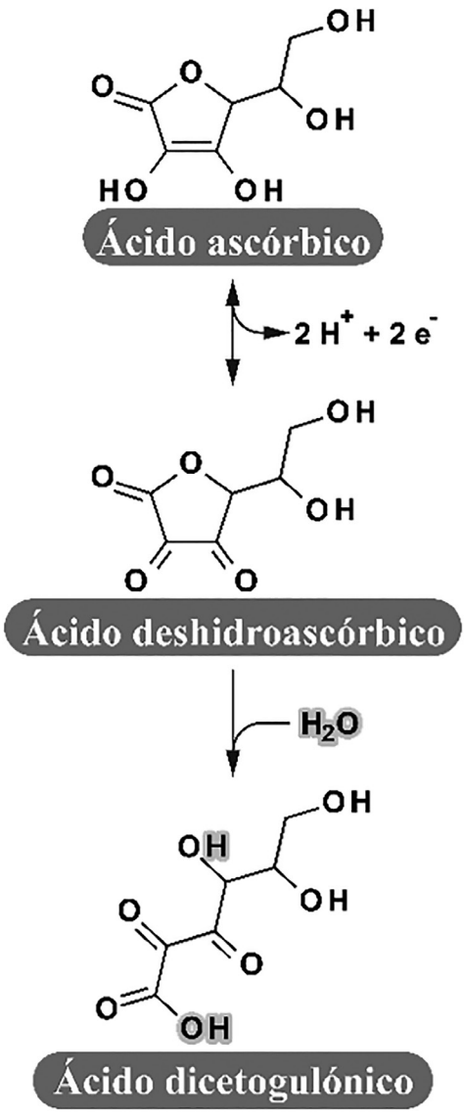


Figura 8.16 Oxidación reversible del ácido ascórbico en ácido deshidroascórbico e inactivación por formación de ácido dicetogulónico.

(Cu, Zn, Mn). La vitamina C también tiene efecto estimulador en la actividad fagocítica de los leucocitos, en la función del sistema retículo-endotelial, en la formación de anticuerpos y en la producción de interferón, contribuyendo así en la defensa contra las infecciones. Por otra parte, la vitamina C reduce la cantidad de glucocorticoides circulantes, que tienen efecto supresor sobre la función de los neutrófilos, y posee efecto preservante de la vitamina E mediante la regeneración de la forma reducida del α-tocoferol.

Deficiencia de vitamina C

En términos prácticos los animales domésticos no sufren deficiencia de vitamina C, una vez que la sintetizan a partir de la glucosa en el hígado y el riñón. Sin embargo, por situaciones de dietas desbalanceadas, trastornos metabólicos, o deficiencia de vitaminas A o E puede haber signos de deficiencia de vitamina C, que incluyen escorbuto, especialmente en rumiantes jóvenes bajo condiciones estresantes (frío, humedad, escaso consumo de calostro). En estos animales la síntesis de vitamina C comienza a funcionar a partir de las dos a tres semanas de vida, y en los niveles adultos hasta los tres meses de edad. Los rumiantes son la especie que más podría sufrir deficiencia de vitamina C, en comparación con los monogástricos, porque no tienen acceso a fuente exógena una vez el ácido ascórbico de la dieta es destruido por la flora ruminal. En lechones recién destetados, en condiciones ambientales adversas, puede ocurrir deficiencia de vitamina C, principalmente si existe un balance energético negativo. En esos casos se pueden observar signos como debilidad, dolor óseo y hemorragias cutánea y muscular. Situación similar puede ser observada en pollitos recién nacidos, sobre todo si hay condiciones de manejo estresantes tales como frío o calor excesivos, subnutrición, vacunaciones y presencia de enfermedades como coccidiosis. En esas condiciones la suplementación de vitamina C (150 ppm en la dieta) mejora el desempeño de los pollos. En gallinas ponederas, al recibir 100 ppm de vitamina C puede haber mejora en la vida de postura, en la calidad de la cáscara y en la producción de huevos. Suplementos de 200 ppm de vitamina C en pollos bajo condiciones de estrés por calor pueden mejorar las respuestas de ganancia de peso y conversión alimentaria.

El cobayo, especie que no puede sintetizar vitamina C, puede manifestar la deficiencia con anorexia, pérdida de peso, anemia y hemorragias dispersas. La típica deficiencia de vitamina C en humanos resulta en escorbuto, una enfermedad caracterizada por encías doloridas y esponjosas, dientes flojos, fragilidad de los vasos sanguíneos, edemas en las articulaciones y anemia. La mayoría de los signos puede ser explicada por deficiencia en la síntesis del colágeno, que ocasiona tejido conectivo defectuoso.

Toxicidad de la vitamina C

En general, altas dosis de vitamina C son bien toleradas, si bien hay relatos de efectos tóxicos en megadosis, que incluyen acidosis, problemas gastrointestinales y glucosuria. Como la vitamina C mejora la absorción intestinal de hierro, puede ocurrir acúmulo de hierro (hemocromatosis), el cual afecta la función hepática.

Carnitina

Para la mayoría de las especies animales la carnitina no es considerada una vitamina, ya que puede ser sintetizada por el propio organismo. No obstante, en circunstancias en que la síntesis está disminuida debido a falta de sus aminoácidos precursores (metionina y lisina), puede haber situaciones deficitarias. La carnitina es esencial en algunos insectos, como el gusano de la harina (*Tenebrio molitor*) y la mosca de las frutas (*Drosophila melanogaster*), en los que es una verdadera vitamina. La carnitina es una amina cuaternaria (β-hidroxi-γ-trimetilaminobutirato), similar a la colina, bastante soluble en agua, que puede estar en forma libre o como éster (**Figura 8.17**).

La carnitina se sintetiza en el hígado y el riñón a partir de dos aminoácidos precursores, metionina y lisina, con cofactores como el ácido ascórbico, la nicotinamida, la piridoxina y el hierro. Es almacenada en el tejido muscular y excretada por el riñón, que reabsorbe casi el 90 % del total excretado, teniendo, por tanto, un alto grado de conservación. No existen requerimientos nutricionales de la carnitina en los animales, una vez que cantidades adecuadas son sintetizadas por el organismo en situación normal.

Funciones de la carnitina

La carnitina participa en el transporte de los ácidos grasos de cadena larga desde el citoplasma hasta el interior de la mitocondria, donde sufren β-oxidación. Los ácidos grasos esterificados con la coenzima A

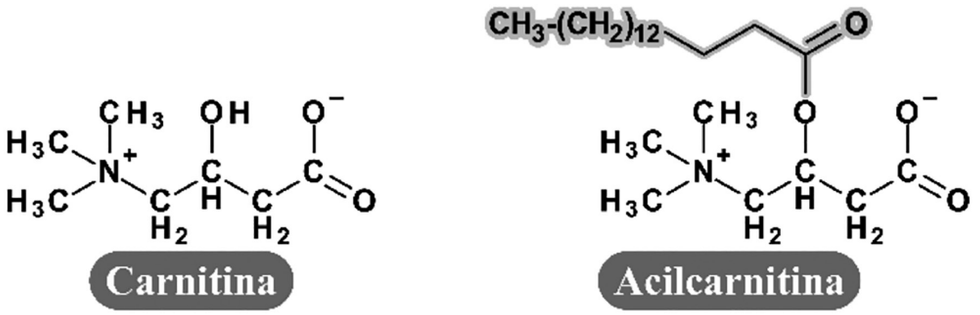


Figura 8.17 Estructuras de la carnitina y de un éster de carnitina (palmitoilcarnitina)

La estructura del palmitato está resaltado en fondo gris.

(grupos acil-CoA) no pueden atravesar la membrana de la mitocondria y deben ser transferidos a la carnitina, en el citoplasma, por acción de la enzima carnitina aciltransferasa I, transformándolos en grupos acil-carnitina, que entran a la matriz mitocondrial, donde son retransferidos a la coenzima A mediante la enzima carnitina aciltransferasa II (**Figura 4.5**). De esa forma los ácidos grasos (como grupos acil-CoA) son oxidados dentro de la mitocondria para la generación de ATP. Por tanto, el papel de la carnitina es considerado esencial en la utilización de esos sustratos energéticos. La carnitina también sirve de agente protector de las células contra el efecto tóxico de un posible acúmulo de compuestos acil-CoA, captando los grupos acilo como ésteres de carnitina, los cuales son después transportados al hígado para ser catabolizados o al riñón para ser excretados. Además son atribuidas funciones a la carnitina en procesos como lipólisis, cetogénesis y detoxificación de amonio.

Deficiencia de carnitina

El principal evento que ocurre en la deficiencia de carnitina es la falla en la oxidación de los ácidos grasos, lo que ocasiona un desvío de esos compuestos para la síntesis de triglicéridos, particularmente en el hígado, lo que puede llevar a una esteatosis hepática. Además del balance negativo de energía que la falta de utilización de ácidos grasos podría ocasionar, cantidades acumuladas de grupos acil-CoA afectan el ciclo de Krebs, la gluconeogénesis y el ciclo de la urea, incrementando el déficit de energía y llevando a signos clínicos que incluyen encefalopatía e ictericia. En rumiantes y otros animales el uso de carnitina es recomendado en casos de intoxicación por amonio al estimular la síntesis de urea y consecuentemente la incorporación de amonio. Estudios sobre la patogenia de la cetosis en las vacas y la toxemia en la gestación de ovejas y cabras, han llevado a la hipótesis de una desrepresión que sufriría la enzima carnitina aciltransferasa I, lo que permitiría la entrada descontrolada de ácidos grasos al interior de la mitocondria y la generación excesiva de cuerpos cetónicos. En otras especies, como porcinos, la suplementación de carnitina produjo mejora en la ganancia de peso y disminución de grasa en la carcasa. En ciertas familias de perros con cardiomiopatía dilatada han sido encontrados bajos valores de carnitina en el miocardio.

Toxicidad de la carnitina

En animales no existen estudios que muestren la tolerancia máxima de carnitina. Apenas en humanos fue relatada diarrea en casos de suplementación muy arriba de las cantidades consumidas en la dieta normal. El isómero D-carnitina interfiere con la función normal del isómero L-carnitina, que es el compuesto natural.

Cuadro 8.1 Marcos históricos en el estudio de las vitaminas hasta el siglo xx

2967 a. C.	Se describe el beriberi en China, primer desorden vitamínico documentado.
1500 a. C.	Los egipcios observan que problemas de ceguera nocturna y xeroftalmia (resecamiento de la conjuntiva), típicos signos de la deficiencia de vitamina A, son curados con la ingesta de hígado de animales.
130 a 200	El raquitismo es descrito por Soranus Ephesius como una enfermedad que causaba deformación de los huesos y estaba relacionada con el hecho de no recibir sol.
1492 a 1600	Se describe el escorbuto, una enfermedad en humanos caracterizada por signos clínicos de gingivitis hemorrágica y pérdida de dientes, potencialmente fatal por causa de múltiples hemorragias. Se relatan epidemias cuando había carencia de frutas frescas, principalmente cítricas.
1735	La enfermedad conocida como 'pelagra' en humanos es descrita por Gaspar Casal (médico de la corte de Felipe V), en el norte de España, donde la población la conocía como 'mal de la rosa', y Casal la relacionó con pobreza y mala alimentación. Estudios posteriores la identifican en otras latitudes y comienzan a relacionarla con deficiencia de proteína. El término 'pelagra' significa piel áspera, y se manifiesta con dermatitis, diarrea, demencia y muerte. Más tarde fue descrita en perros como 'lengua negra'.
1747	James Lind, médico de la Marina británica, relaciona el escorbuto, que acometía a los marineros en viajes prolongados, con la deficiencia de frutas frescas, y estableció la rutina de suministrar limones a los soldados.
1810	Es descubierta la relación entre pelagra y dieta de maíz.
1822	Sniadecki propuso que el raquitismo ocurría por falta de exposición a la luz solar. La mayoría de los científicos de la época no creían que una enfermedad podía ser curada apenas con la exposición al sol.
1824	Combe describe una anemia fatal en humanos, que fue llamada anemia perniciosa. Varios investigadores buscaban un factor hepático efectivo en el tratamiento de la anemia perniciosa, que inicialmente fue confundido con el hierro.
1849	La colina es aislada por Streker en bilis de cerdos a partir de la lecitina (fosfatidilcolina).
1867	Es establecida la estructura química de la colina por Bayer.
1880	Takaki previene beriberi en marineros japoneses sustituyendo el arroz por otros alimentos.
1897	Eijkman descubre que pollos alimentados con arroz blanco y afectados de beriberi (polineuritis) se recuperaban cuando eran alimentados con arroz integral. Este investigador atribuyó el hecho a una toxina del arroz blanco que sería contrarrestada al consumir el arroz integral.

1901	Grijns, sucesor de Eijkman, postula que el beriberi era causado por la falta de un importante componente del alimento.
1905	La carnitina es aislada de extractos de carne.
1906	Hopkins sugiere que sustancias en los alimentos naturales llamadas 'factores accesorios del alimento' son indispensables y no se encuadran en la categoría de carbohidratos, grasas, proteínas ni minerales.
1907	Holst y Frolich descubren que el cobayo podía sufrir de escorbuto, proporcionando así un animal experimental para estudiar la deficiencia de vitamina C.
1910	Hopkins y Stepp observan que un factor estimulante del crecimiento podía ser extraído de la leche, lo que más tarde llevó a identificar la vitamina A. La presencia de ese factor promotor de crecimiento fue descrita también en la yema del huevo, la mantequilla y el aceite de hígado.
1911	Casimir Funk, un joven bioquímico polaco del Lister Institute de Londres, aísla de la cáscara de arroz una sustancia cristalizada que poseía una función amina, y que se reveló capaz de prevenir y curar el beriberi, razón por la cual Funk la llamó 'vitamina', para subrayar que era una "amina indispensable a la vida". Se trataba de lo que posteriormente fue identificado como tiamina o vitamina B_1, constituyéndose en la primera vitamina en ser descubierta. Aunque no todas las vitaminas son aminas, el término prevaleció.
1913	McCollum y Davis describen un "factor A" de la grasa animal que tenía efecto estimulante del crecimiento.
1919	Steenbock reporta que el caroteno de los vegetales es vitamina A. Sir Edward Mellanby reporta la inducción de raquitismo en perros a través de la manipulación de la dieta (a base de harina de avena y —sin que lo planease— en ausencia de luz solar). Descubre que la enfermedad podía ser revertida con aceite de hígado de bacalao, por lo cual erróneamente pensó que se trataba de deficiencia de vitamina A y no de vitamina D.
1920	Drummond propone que el factor A debería ser llamado vitamina A.
1922	McCollum reporta que el factor curativo del aceite de hígado de bacalao no era la vitamina A, sino otra sustancia liposoluble, posteriormente identificada como vitamina D.
1922 a 1925	Herbert Evans y Kathryn Bishop observan que ratas desarrollaban problemas reproductivos cuando eran alimentadas con dieta conteniendo grasa rancia, a menos que fuesen suplementadas con lechuga, alfalfa o germen de trigo. Más tarde, es descubierto que el aceite de germen de trigo contenía un principio activo al parecer responsable de mejorar el desempeño reproductivo. El compuesto es designado como vitamina E por Sure y Evans y más tarde bautizado como α-tocoferol, del griego *tokos,* que significa 'nacimiento'.

1926	Jansen y Donath aíslan la tiamina en forma cristalina de salvado de arroz. Minot y Murphy demuestran que el suministro oral de grandes cantidades de hígado diariamente cura la anemia perniciosa.
1928	Szent-Györgyi aísla un factor antiescorbuto en varias frutas, denominándolo ácido hexurónico, un derivado de la glucosa. Bechtel y colaboradores demuestran que las bacterias ruminales sintetizan las vitaminas del complejo B.
1929	Moore observa que los carotenos de origen vegetal pueden ser convertidos en vitamina A en el organismo animal. Henrik Dam nota que aves alimentadas con dietas en las que se utilizaron solventes apolares para remover esteroles, en un estudio para determinar la capacidad de sintetizar colesterol, desarrollaban hemorragias musculares y subcutáneas. Estos estudios fueron extendidos por MacFarland, quien observó que defectos de coagulación en aves alimentadas con dietas basadas en extracto lipídico de pescado o harina de carne no podían ser revertidos con el uso de las vitaminas conocidas hasta entonces, y la enfermedad hemorrágica en pollos fue asociada con un nuevo factor, designado como vitamina K, la vitamina de la coagulación, siendo así la última vitamina liposoluble en ser descubierta. Castle postula que la anemia perniciosa se debía a una interacción entre un factor extrínseco (en la dieta) y un factor intrínseco (en el jugo gástrico). Es determinado el papel esencial de la colina en la formación de la acetilcolina y se observa el potencial de la colina en la prevención de lipidosis hepática en perros, con privación de insulina, atribuyendo desde entonces su característica como 'factor lipotrópico'.
1930	Norris y Ringrose describen una dermatitis similar a la pelagra en pollos que más tarde fue identificada como deficiencia de ácido pantoténico.
1931	Pappenheimer y Goettsch observan que la vitamina E también es requerida para evitar degeneración muscular en conejos y cobayos, así como encefalomalacia en pollos. Posteriormente otros signos fueron identificados en la deficiencia de vitamina E, incluyendo diátesis exudativa en pollos, y necrosis hepática y anemia hemolítica en otros animales. El ácido fólico comienza su protagonismo como molécula esencial en el metabolismo al ser descubierto por Willis como un factor presente en levaduras, eficaz para tratar la anemia macrocítica tropical en mujeres en la India.
1932	La estructura de la vitamina D_2 es determinada simultáneamente por Windaus en Alemania (quien la llamó vitamina D_2) y por Askew en Inglaterra (quien la llamó ergocalciferol). Warburg y Christain aíslan una enzima oxidativa de levaduras que contenían una fracción proteica y otra no proteica, siendo la primera vez que se identificó un grupo prostético (activador) de una enzima. Así, la riboflavina era encontrada en una coenzima antes de ser descubierta en su forma libre. Fraenkel, al estudiar los requerimientos nutricionales del gusano de la harina, utilizado en alimentación animal (principalmente pájaros), propone el reconocer una vitamina del complejo B identificada como carnitina.

1933	Kuhn aisla un pigmento amarillo de la clara del huevo que tenía propiedades oxidativas y funcionaba como factor de crecimiento en ratas, al que le dio el nombre de 'flavina' (ovoflavina por ser del huevo). Más tarde se descubrió que contenía ribosa y se le llamó riboflavina. El ácido pantoténico es descubierto por Roger Williams. El ácido hexurónico es sintetizado por Richstein y establecida su actividad como factor antiescorbuto, designándolo como vitamina C.
1934	György reconoce la vitamina B_6 como una vitamina específica, al demostrar que una enfermedad similar a la pelagra en ratas, conocida como acrodinia, podía ser prevenida por esta vitamina, pero no por tiamina, riboflavina o niacina, y propuso el nombre 'piridoxina' a este compuesto.
1935 a 1937	Se demuestra la esencialidad del cobalto como ion central de la cianocobalamina en bovinos y ovinos por Underwood y colaboradores en Australia, y Becker y asociados en Florida (Estados Unidos).
1935	Almquist y Stokstad demuestran que la enfermedad hemorrágica en pollos podía ser revertida con extracto de alfalfa, que contenía vitamina K. Day y colaboradores describen un factor presente en levaduras y extractos hepáticos que prevenía anemia en monos, al cual denominaron vitamina M. Warburg y colaboradores demuestran una función metabólica de la niacina al aislarla de una enzima con NADP.
1936	Windaus también determinó la estructura de la vitamina D_3. Kogl y Tonnis dan el nombre de biotina a un factor de crecimiento aislado de la yema de huevo necesario para levaduras. Williams y colaboradores determinan la estructura y sintetizan la tiamina.
1937	Elvehjem aísla la nicotinamida del hígado como el factor que podía curar lengua negra en perros. Snell observa que un compuesto ácido era un factor esencial para el crecimiento de levaduras y bacterias acidolácticas y acidopropiónicas.
1938	Con la elucidación de la estructura del α-tocoferol por Fernholz, estudios demuestran que la deficiencia de vitamina E puede resultar en falla embrionaria.
1939	Hogan y Parrot identifican en pollos un factor hepático llamado Bc.

1940	Queda claro que sustancias sintetizadas por bacterias también poseen actividad de vitamina K. Hay informaciones respecto de un compuesto en el trébol y en gramíneas descompuestas que parecía ser causa de desórdenes hemorrágicos en bovinos y servía como antagonista de la vitamina K. Más tarde este compuesto fue identificado como dicumarol. Williams aísla, determina la estructura y da el nombre al ácido pantoténico, inspirado en la palabra griega *pantos*, que significa 'encontrado en toda parte'. Snell describe un factor de crecimiento obtenido de hojas de espinaca, designado como ácido fólico, del latín *folium* (hoja). Harris realiza la síntesis química de la biotina.
1945	Krehl descubre que el triptofano es tan activo como la niacina en el tratamiento de pelagra. Después, Heidelberg da la prueba definitiva de que el triptofano es convertido en ácido nicotínico (vitamina B_3).
1947	Lipmann y Kaplan descubren en el hígado que la forma activa del ácido pantoténico es la coenzima A.
1948	La cianocobalamina (vitamina B_{12}) es la última vitamina en ser descubierta (por Rickes y colaboradores).
1956	Es dilucidada la complicada estructura de la cianocobalamina.
1957	Schwartz descubre que la levadura de cerveza (que no contiene vitamina E) es efectiva, así como la vitamina E, en prevenir necrosis hepática. Después de este descubrimiento se encuentra que el selenio era el ingrediente activo de la levadura de cerveza en esta función y para prevenir la diátesis exudativa en pollos y la degeneración muscular en terneros.
1961	Es descrita la forma coenzimática de la cianocobalamina (coenzima B_{12}) por Lenhert y Hodgkin. Esta última investigadora recibe el premio Nobel por elucidar la estructura de la vitamina B_{12} mediante cristalografía de rayos X.
1966	De Luca demuestra que el colecalciferol se convierte en 25-hidroxicolecalciferol (25-HCC) en el hígado.
1974	Queda aclarado el papel metabólico de la vitamina K cuando se descubre que el γ-carboxiglutamato está presente en todas las proteínas dependientes de vitamina K.

8.4 Bibliografía

Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., y Castillo, C. (2013). Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period. *Animal, 7,* 1374-1378.

Ahn, C., Kang, J. H., y Jeung, E. B. (2017). Calcium homeostasis in diabetes mellitus. *Journal of Veterinary Science, 18,* 261-266.

Babior, B. M. (1997). Superoxide: a two-edged sword. *Braz. J. Med. Biol. Res., 30*, 141-155.

Banhegyi, G., Braun, L., Csala, M., Puskas, F., y Mandl, J. (1997). Ascorbate metabolism and its regulation in animals. *Free Radical Biol. Med., 23*, 793-803.

Corah, L. R., Wright, C. L., y Arthington, J. D. (1998). Applied aspects of vitamin E and trace-mineral suplementation. *The Compendium,* 866-874.

Hazewinkel, H. A. W. (2016). Metabolic, nutritional and endocrine bone disorders. En M. J. Bojrab y E. Monnet (eds.), *Mechanisms of diseases in small animal surgery*, 3.ª edición (pp. 1-11). Jackson, EE. UU.: Teton New Media.

Hidiroglou, N., Wolynetz, M. S., y McDowell, L. R. (1993). Serum total cholesterol, high-density lipoprotein-cholesterol and triglyceride concentrations in lambs following supplementation with various forms of tocopherol. *Reproduction and Nutrition Development, 33,* 263-268.

Koury, M. J., y Ponka, P. (2004). New insights into erythropoiesis: The roles of folate, vitamin B_{12}, and iron. *Annual Rev. Nutr., 24*, 105-131.

Laganá, C., Ribeiro, A. M. L., González, F. H. D., Lacerda, L., Terra, S. R., y Barbosa, C. P. (2005). Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de frangos de corte em estresse por calor. *Boletim de Indústria Animal, 32,* 157-165.

LeBlanc, S. J., Herdt, T. H., Seymour, W. M., Duffield, T. F., y Leslie, K. E. (2004). Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *Journal of Dairy Science, 87,* 609-619.

MBifo, S., McDowell, L. R., y Batra, T. R. (1997). Effects of time and month of harvesting on vitamin E, beta-carotene, and mineral concentrations of Bermuda grass. *Journal of Animal Science, 12,* 53-56.

McDowell, L. R. (2014). *Vitamins in animal and human nutrition*, 2.ª ed. New Delhi: Wiley India.

McDowell, L. R., Williams, S. N., e Hidiroglou, N. (1996). Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science Technology, 60,* 273-296.

National Research Council (1987). *Vitamin tolerance of animals*. Washington: National Academy of Sciences.

Ochoa, L., McDowell, L. R., y Williams, S. N. (1992). Alfa-tocopherol concentrations in serum and tissues of sheep fed different sources of vitamin E. *Journal of Animal Science, 70,* 2568-2573.

Oliveira, M. C., y Schoffen, J. P. F. (2010). Oxidative stress action in cellular aging. *Braz. Arch. Biol. Technol., 53*, 1333-1342.

Olson, J. D. (1996). The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *Continuing Education, 49,* 362-364.

Paschoal, J. J., Zanetti, M. A., y Cunha, J. A. (2006). Contagem de células somáticas no leite de vacas suplementadas no pré-parto com selênio e vitamina E. *Ciência Rural, 36,* 1462-1466.

Pereira, R. A., Fensterseifer, S., Barcelos, V. B., Martins, C. F., Schneider, A., Schmitt, E. y Correa, M. N. (2013). Metabolic parameters and dry matter intake of ewes treated with butaphosphan and cyanocobalamin in the early postpartum period. *Small Rumin. Res., 114*, 140-145.

Pereira, R. A., Silveira, P. A., Montagner, P., Schneider, A., Schmitt, E., Rabassa, V. R. y Correa, M. N. (2013). Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. *Animal, 7*, 1143-1147.

Ramos, J. J., Gómez, J., Pastor, J., Verde, M. T., y Fernández, A. (1990). Estudio sobre el cobalto: valores séricos de vitamina B_{12} en ovejas de la raza Rasa Aragonesa. *Medicina Veterinaria, 7,* 465-468.

Ramos, J. J., Sáez, T., Bueso, J. P., Sanz, M. C., y Fernández, A. (1994). Vitamin B_{12} levels in ewe colostrum and milk and in lamb serum. *Veterinary Research, 25,* 405-409.

Rollin, E., Berghaus, R. D., Rapnicki, P., Godden, S. M., y Overton, M. W. (2010). The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum β-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *J. Dairy Sci., 93*, 978-987.

Sáez, T., Ramos, J. J., Marca, M. C., Sanz, M. C., Fernández, A., y Verde, M. T. (1996). Haematological and biochemical changes in the blood of ewes and lambs after selenium and vitamin E injection. *Journal of Applied Animal Research, 9,* 51-60.

Santiago, C. M. (1985). Estudo da influência do uso da emulsão de selênio-tocoferol no desenvolvimento ponderal dos bezerros de raça de corte no RS, Brasil. *A Hora Veterinária, 26,* 28-31.

Santiago, C. M. (1986). Estudo da influência do uso da emulsão de selênio-tocoferol nas vacas de corte no RS, Brasil. *A Hora Veterinária, 31,* 23-25.

Santiago, C. M. (2001). Estudo do crescimento dos bezerros nascidos sob efeito da aplicação da emulsão de selênio-tocoferol nas vacas gestantes. *A Hora Veterinária, 34,* 25-27.

Scarpace, P. J., Kumar, M. V., Bouchard, G. F., y Sunvold, G. D. (2000). Dietary vitamin A supplementation: role in obesity and leptin regulation in the dog and cat. En G. A. Reinhart y D. P. Carey (Eds.), *Recent advances in canine and feline nutrition*, vol. 3 (pp. 103-111). Wilmington (EE. UU.): Orange Frazer Press.

Smith, O. B., & Akinbamijo, O. O. (2000). Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science, 60-61,* 549-560.

Stangl, G. I., Schwarz, F. J., Müller, H., y Kirchgessner, M. (2000). Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B_{12}, folate, homocysteine and methylmalonic acid. *British Journal of Nutrition, 84,* 645-653.

Velásquez-Pereira, J., Chenoweth, P. J., y McDowell, L. R. (1998). Reproductive effects of feeding gossypol and vitamin E to bulls. *Journal of Animal Science, 78,* 2894-2904.

Velásquez-Pereira, J., Prichard, D., y McDowell, L. R. (1998). Long-term effects of gossypol and vitamin E in the diets of dairy bulls. *Journal of Dairy Science, 81,* 2475-2484.

Wilkens, M. R., Oberheide, I., Schröder, B., Azem, E., Steinberg, W., y Breves, G. (2012). Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D_3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science, 95,* 151-164.

Zust, J., Hrovatin, B., Simundic, B. (1996). Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec., 139*, 391-399.

Capítulo 9
Perfil bioquímico sanguíneo

La determinación e interpretación de compuestos químicos en la sangre son algunas de las principales aplicaciones prácticas de la bioquímica clínica. Los perfiles bioquímicos del plasma pueden ser utilizados en veterinaria, no solo para evaluación clínica individual, sino también para evaluar y monitorear la condición nutricional y metabólica en grupos de animales. Cuando es interpretado adecuadamente el perfil bioquímico del plasma ofrece importante información con relación al estado clínico, metabólico y productivo de un animal. Sin embargo, se debe resaltar que los perfiles laboratoriales son considerados una ayuda en el diagnóstico y que el veterinario debe hacer uso de toda la información disponible, como el examen físico y la historia clínica, antes de llegar a un diagnóstico final. El perfil bioquímico sirve además como indicador de los procesos adaptativos del organismo, en el metabolismo energético, proteico y mineral, así como para ofrecer auxilio en la interpretación del funcionamiento hepático, renal, pancreático, **óseo y** muscular. Algunos metabolitos pueden funcionar como indicadores del potencial productivo y reproductivo de los animales, y varios de esos indicadores pueden estar genéticamente controlados, lo que motiva profundizar el estudio de esos aspectos en el área de mejoramiento animal.

9.1 Componentes del perfil metabólico

El número de metabolitos que podrían analizarse en el perfil sanguíneo puede ser ilimitado, pero solo se justifica estudiar aquellos de los cuales se conoce su fisiología y metabolismo con la finalidad de hacerse una interpretación útil. En el metabolismo energético se consideran los niveles sanguíneos de glucosa, colesterol y ácidos grasos libres. En rumiantes también se estudian los niveles de β-hidroxibutirato (BHB). En el metabolismo proteico se determinan los niveles de proteínas totales, albúmina, globulinas, y en rumiantes la urea (**Tabla 9.1**). En el metabolismo mineral se investigan, entre otros, los niveles de calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, cobre, zinc y cobalto, así como indicadores para selenio (glutatión peroxidasa) y yodo (tiroxina) (**Tabla 9.2**).

El perfil metabólico puede incluir enzimas y otros metabolitos que permitan evaluar el funcionamiento de diferentes sistemas, así como la determinación hematológica, para evaluar anemias, estados de deshidratación y cuadros infecciosos.

La interpretación del perfil bioquímico es compleja, tanto si se aplica a rebaños como a individuos, debido a los mecanismos que controlan el nivel sanguíneo de varios metabolitos y, también, a la gran variación de sus niveles en función de factores, como raza, edad, estrés, dieta, nivel de producción lechera, manejo, clima y estado fisiológico (lactación, gestación, estado reproductivo). Para la correcta interpretación de los perfiles metabólicos es indispensable contar, además, con valores de referencia apropiados para la región y la población en particular, o utilizar valores referenciales de zonas climáticas y grupos animales similares. Se considera, en general, que existe variación significativa en el valor analizado cuando está fuera del intervalo comprendido entre el promedio ± 2 veces la desviación estándar de los valores referencia. No obstante, el verdadero significado de un valor alterado debe ser analizado junto con factores como la historia clínica, el examen clínico, el manejo, la alimentación y la producción.

9.2 Colecta y manejo de muestras sanguíneas

La confiabilidad en el uso del laboratorio como apoyo diagnóstico depende, en gran medida, de que el material utilizado en el análisis haya sido recogido y conservado adecuadamente. Asimismo, para el aprovechamiento óptimo de los análisis de patología clínica debe existir una relación estrecha entre el médico veterinario clínico y el laboratorio de diagnóstico.

Tabla 9.1 Valores de referencia de algunos metabolitos plasmáticos

Metabolito (unidad)	Caninos	Felinos	Bovinos	Equinos	Ovinos
Ácidos grasos libres (µmol/L)	100-300	130-200	200-300	100-300	200-300
Albúmina (g/L)	26-33	21-33	27-38	26-37	24-30
β-hidroxibutirato (mg/dL)	0,24-0,36	0-2	< 10	< 10	6-10
Bilirrubina conjugada (mg/dL)	0,06-0,12	< 0,1	0,04-0,44	< 0,4	< 0,27
Bilirrubina total (mg/dL)	0,1-0,5	0,15-0,5	0,01-0,5	1-2	0,1-0,5
Colesterol (mg/dL)	135-270	95-130	80-120	75-150	51-76
Creatinina (mg/dL)	0,5-1,5	0,8-1,8	1,0-2,0	1,2-1,9	1,2-1,9
Glucosa (mg/dL)	65-118	70-100	45-75	75-115	50-80
Globulinas (g/L)	27-44	26-51	30-52	26-40	35-57
Hemoglobina (g/dL)	12-18	8-14	9-15	11-19	9-14
Lactato (mg/dL)	2-13	5-22	5-20	10-16	9-12
Proteína total (g/L)	54-71	54-78	66-75	52-79	60-79
Triglicéridos (mg/dL)	38	35	< 14	4-44	15-57
Urea (mg/dL)	21-60	43-64	36-96	21-51	17-43

Tabla 9.2 Valores de referencia de algunos minerales séricos

Mineral (unidad)	Caninos	Felinos	Bovinos	Equinos
Calcio (mg/dL)	9,0-11,3	6,2-10,2	8,0-12,4	11,2-13,6
Cobre (µmol/L)	15,7-31,5	10,7-16,3	5,16-5,54	22,8-28,3
Hierro (µmol/L)	5,4-32,2	12,2-38,5	10,2-29,0	13,1-25,1
Fósforo (mg/dL)	2,6-6,2	4,5-8,1	3,4-7,1	3,1-5,6
Magnesio (mg/dL)	1,8-2,4	2,2	1,7-3,0	2,2-2,8
Potasio (mmol/L)	4,4-5,3	4,0-4,5	3,9-5,8	2,4-4,7
Sodio (mmol/L)	141-152	147-156	132-152	132-146

El envío de muestras inadecuadas implica pérdida de tiempo, de recursos y, en determinadas ocasiones, causa complicaciones en la salud del animal a causa de una interpretación incompleta o incorrecta de resultados. Con frecuencia se argumenta que en la práctica clínica veterinaria es complicado recurrir al uso de los laboratorios para apoyar el diagnóstico, ya que, por lo general están localizados a grandes distancias, pero cuando se domina un adecuado manejo de muestras esta limitante no es significativa. Cada vez que las muestras sean enviadas a cualquier laboratorio de diagnóstico es muy importante hacer una adecuada identificación de ellas, utilizando material que resista al manejo, esto es, tintas permanentes resistentes al agua, cintas con adhesivo o etiquetas propias. Es necesario acompañar las muestras con un protocolo que incluya: (a) identificación del propietario, médico veterinario o persona responsable, teléfono y dirección; (b) datos de identificación del animal o animales muestreados; (c) anamnesis completa del paciente y/o del rebaño, sin omitir datos relevantes de la historia clínica, nutrición, reproducción, producción y manejo; (d) indicar si existe sospecha de enfermedades infecciosas, en especial si son zoonóticas. Debido a los cambios físico-químicos que ocurren en la muestra con el tiempo, debe ser mencionada la hora de la colecta de la muestra, así como el tipo de conservante utilizado.

Colecta de muestras

Existen varios métodos para obtener una muestra de sangre: (a) aguja directa, método útil y rápido para obtener grandes volúmenes; su desventaja más importante es que causa contaminación de la muestra y, sobre todo, del medio ambiente; (b) jeringa; no se debe hacer vacío violento; cuando se la usa es recomendable que el anticoagulante esté en forma líquida; cuando la sangre se va a transferir a otro recipiente, hay que retirar la aguja de la jeringa para evitar hemólisis en la muestra; (c) sistema de tubos a vacío (*vacutainer*); es importante tener en cuenta que si se utiliza algún tipo de anticoagulante el tubo ha de llenarse hasta terminar el vacío para mantener las proporciones sangre/anticoagulante; (d) sistema de vacío con tubos de plástico; su utilización está más orientada a determinaciones serológicas, tales como detección de anticuerpos para diferentes patologías.

El principal factor de alteración de resultados es la hemólisis, que tiene como causas más comunes las siguientes: provocar vacío violento en la colecta de la muestra con aguja de calibre muy fino; causar impacto del chorro de sangre en el fondo del recipiente; utilizar material húmedo con agua o alcohol; usar material sucio o contaminado; usar material de mala calidad, con bordes o paredes rugosas; agitar la muestra al incorporarla con el anticoagulante; provocar choques térmicos tanto calientes como fríos; permitir temperaturas extremas; manipular bruscamente las muestras a fin de obtener el suero antes de que el coágulo se haya formado.

Anticoagulantes

Las muestras para hematología requieren sangre completa con máximo seis horas de almacenamiento a temperatura ambiente o veinticuatro horas en nevera. Nunca deben ser congeladas. Las muestras para bioquímica pueden ser realizadas en suero (colecta de sangre sin anticoagulante) o en plasma (colecta con anticoagulante). El suero o el plasma pueden ser refrigerados hasta por tres días o congelados durante varios meses hasta su análisis, sin que haya perjuicio en el resultado de los test bioquímicos. En bioquímica sanguínea se prefiere trabajar con sangre heparinizada que con sangre coagulada, pues facilita la manipulación y la conservación, además de disminuir el riesgo de hemólisis. En caso de recolectar sangre sin anticoagulante, debe ocurrir la formación del coágulo (de sesenta a ciento ochenta minutos) antes de la completa obtención del suero. La única diferencia analítica entre suero y plasma es que el primero no contiene fibrinógeno, el cual se gasta en la formación del coágulo (fibrina). Desde el punto de vista de medición de proteínas totales, el valor de fibrinógeno es en torno de 5%-7%, lo que puede ser desconsiderado; no obstante, el fibrinógeno se considera una proteína de fase aguda y puede tener importancia analítica y clínica en algunos casos. Algunos de los más importantes anticoagulantes (**Figura 9.1**) se describen a continuación.

EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético): es el anticoagulante más usado para hematología porque no deforma las células blancas. Actúa como agente quelante del calcio impidiendo que ocurra el proceso de coagulación. Se usan las sales de sodio y potasio en soluciones acuosas al 10% (dos-tres gotas para 5-10 mL de sangre).

Heparina: es un anticoagulante natural, el más recomendado para análisis bioquímicos por no interferir con los reactivos usados en la mayoría de los test. Puede ser usado para conteo eritrocítico, pero no se recomienda para análisis leucocitarios, ya que puede causar agregación de los leucocitos, alterando su morfología y dificultando el conteo. La heparina fue descubierta, accidentalmente, en 1916, por Jay McLean, en la época un estudiante de medicina que investigaba con extractos de hígado y constató que ese tejido era capaz de retardar la coagulación del plasma. Como fue encontrada en el hígado, fue denominada heparina. El efecto anticoagulante de la heparina está relacionado con su fuerte carga electronegativa. Se describen tres efectos de la heparina sobre el proceso de coagulación: primero, interfiere en la conversión de protrombina a trombina; segundo, tiene efecto opuesto a la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, impidiendo la formación de un cofactor de esta proteína en la fracción albúmina del plasma; tercero, reduce la capacidad de aglutinación de las plaquetas. El efecto anticoagulante de la heparina es muy rápido, cerca de un minuto, y desaparece en tres a cuatro horas. La heparina por lo general se utiliza, al inicio, en tratamientos anticoagulantes *in vivo* (trombosis, embolia pulmonar, fibrilación atrial).

Citrato de sodio: poco recomendado para hematología, pues causa la deformación morfológica

de las células sanguíneas e interfiere con varios test bioquímicos. Es indicado para test de evaluación de la coagulación. Actúa por reacción con el calcio, formando un complejo que neutraliza el proceso de coagulación.

Fluoruro de sodio: recomendado para medir glucosa y lactato cuando la muestra queda más de dos horas sin separar el plasma, debido a su poder antagonista con el proceso de la glucólisis, manteniendo los niveles in vitro de estos metabolitos por más tiempo.

Oxalatos de calcio, de potasio o de amonio: interfieren con el hematocrito y alteran la distribución electrolítica, razón por la cual no se recomiendan para test de minerales. Actúan por interferencia con calcio.

Determinaciones de bioquímica clínica

Para este fin se utiliza suero o plasma. El suero se obtiene a partir de una muestra de sangre extraída sin anticoagulante, esperando el tiempo necesario para la formación de coágulo. El tiempo que dura su formación es variable, de treinta a ciento ochenta minutos, por esa razón es más práctico enviar al laboratorio muestras de plasma utilizando heparina de sodio o litio como anticoagulante (tubos de tapa verde). Los anticoagulantes EDTA, oxalato y citrato no deben ser utilizados para determinaciones bioquímicas. En recipientes de plástico el tiempo de formación del coágulo es aproximadamente el doble que en el de vidrio. Tan pronto se forma el coágulo, este debe ser separado de las paredes del tubo o jeringa donde fue obtenida la muestra, utilizándose un palillo largo de madera o una pipeta Pasteur; posteriormente, ser centrifugado a 1.500 g (2.500 a 3.500 rpm) durante diez minutos y transferir el suero a otro recipiente libre del coágulo. La muestra no debe ser centrifugada ni colocada en refrigeración antes de que el coágulo se haya formado, pues se prolonga el tiempo de coagulación y existe predisposición a hemólisis. Es necesario separar el suero del coágulo o el plasma de las células sanguíneas dentro de un período máximo de dos horas después de recogida la muestra. Si el tiempo es mayor, las fracciones de los parámetros a ser medidos varían a consecuencia del intercambio de elementos entre las fases celular y líquida de la sangre. Después de separado el suero o plasma, es conveniente analizar de inmediato (sobre todo en el caso de la glucosa); si esto no es posible, conviene conservar la muestra en refrigeración (0-4 ºC). Cuando la obtención de los resultados no es urgente pueden enviarse las muestras congeladas (−8 ºC a −20 ºC), ya que la gran mayoría de los parámetros es estable durante por lo menos una semana en esas temperaturas. No obstante, se recomienda consultar un bioquímico clínico antes de proceder, ante la existencia de algunas determinaciones inestables.

La mejor forma de obtener el plasma es colectando las muestras de sangre con heparina como anticoagulante en la proporción de tres gotas al 1 % (0,2 mg o 200 UI) por cada 10 mL de sangre. Es importante mezclar varias veces de forma suave para incorporar totalmente el anticoagulante con la sangre y hacer que esta se conserve en buen estado. La muestra heparinizada debe centrifugarse a 1.500 g durante diez minutos, y luego ser transferido solo el plasma (libre de células) a otro tubo, con una pipeta Pasteur o una jeringa, tapar y enviar al laboratorio clínico. Para los análisis de bioquímica clínica completa (ocho-diez metabolitos) es suficiente extraer 3 a 5 mL de plasma, volumen que se obtiene a partir de 7 a 10 mL de sangre aproximadamente. En los laboratorios que utilizan microtécnicas es suficiente con 1,5 mL de plasma. Cuando se trata de medir microelementos, particularmente zinc, se recomienda usar suero y colocar *parafilm* en vez de la tapa de caucho para cerrar el tubo, debido a la interferencia del material de las tapas en el resultado. La muestra de plasma o suero debe estar protegida de la luz cuando se trata de medir pigmentos biliares (bilirrubina). Si existe interés en medir los valores del perfil lipémico (ácidos grasos no esterificados, colesterol, BHB, triglicéridos, lípidos totales), su determinación requiere ser hecha en suero y no en plasma. Para la determinación de glucosa es posible refrigerar inmediatamente la muestra de sangre completa con heparina y ser analizada en las dos horas siguientes a la colecta; si el tiempo de análisis es más prolongado la muestra ha de colectarse con fluoruro de sodio, que actúa como anticoagulante y simultáneamente inhibe las enzimas de la glicólisis, evitando la degradación de la glucosa en la muestra. Cuando una muestra está hemolizada los valores se pueden observar alterados, por lo general aumentados.

Determinaciones de hematología

A efectos del hemograma, no importa el vaso sanguíneo seleccionado para realizar la obtención de la muestra,

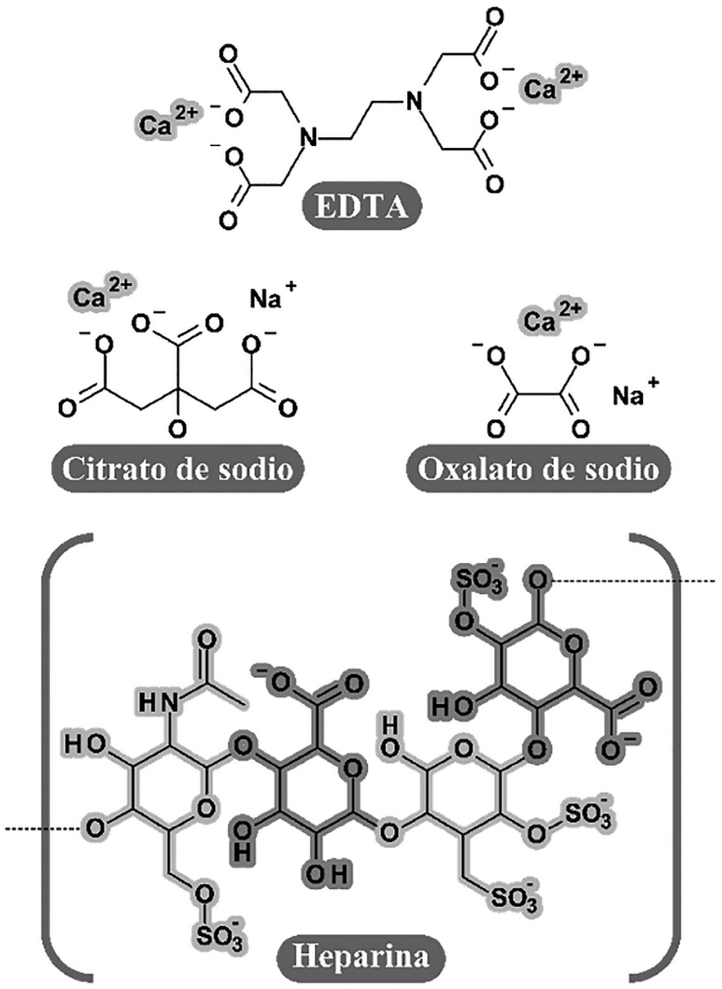


Figura 9.1 Principales anticoagulantes utilizados en análisis clínicos

El ácido etilendiaminotetracético (EDTA), el citrato de sodio y el oxalato de sodio actúan quelando los iones calcio (Ca^{2+}) esenciales para la cascada de coagulación. La heparina se une al inhibidor de la enzima antitrombina III y causa un cambio conformacional que resulta en su activación. La antitrombina III activada, entonces, inactiva la trombina, el factor Xa y otras proteasas, también inhibiendo la cascada de coagulación. La molécula de heparina en esta figura representa solo una parte del polímero, que puede tener una masa molecular bastante elevada.

pues no existen diferencias significativas en las concentraciones de los componentes sanguíneos que son medidos en dicho procedimiento. El anticoagulante de elección para este estudio es EDTA, por ser el que mejor preserva las células sanguíneas, además de no interferir con los colorantes hematológicos. El EDTA se debe utilizar en la proporción de 10-20 mg o dos gotas de una solución al 10% por cada 10 mL de sangre, considerando que un exceso puede alterar los resultados. Si se utiliza el sistema *vacutainer* es importante llenar el tubo hasta la capacidad que marca el fabricante, pues el anticoagulante está calculado para el volumen máximo de cada recipiente. La muestra recogida puede ser conservada durante cuatro horas a temperatura ambiente (15-25 °C); también es posible refrigerarla para ser procesada dentro de las veinticuatro horas posteriores a la colecta, aunque esperando al menos quince minutos después de realizada la colecta en temperatura ambiente antes de ser refrigerada con el propósito de evitar que ocurra hemólisis. Transcurridas veinticuatro horas de recogida, comienzan a ocurrir cambios significativos en la muestra. Para el análisis del hemograma son suficientes 3 mL de sangre. Si se trata de realizar apenas la técnica del hematocrito o medición

de proteínas y fibrinógeno, y si el procesamiento se realiza durante la primera hora luego de la colecta, puede usarse heparina como anticoagulante. Cuando existe interés de observar hemoparásitos (*Babesia* spp., *Anaplasma* spp.) se recomienda preparar el frotis en una lámina inmediatamente después de recogida la muestra; si esto no es posible, se hace necesario preparar el frotis en las siguientes seis horas de obtenida la muestra como máximo, a fin de no tener resultados falsos negativos, pues en esa condición los parásitos no serán observados en las células. La muestra ideal, en esos casos, se obtiene de los vasos periféricos, ya que en ocasiones eso ayuda en la diferenciación de especies, como en el caso de *Babesia bigemina* y *B. bovis*.

Determinación del estado ácido-básico

Este tipo de análisis requiere un manejo muy preciso de las muestras. Los pasos para hacer una adecuada colecta cuando se usa jeringa se describen a continuación: (1) cargar una jeringa limpia de 1-3 mL de capacidad con una solución de heparina al 1 % (1.000 UI por mL), permitiendo que las paredes queden humedecidas; (2) regresar la heparina, de forma suave, a su recipiente; la cantidad de heparina adherida a las paredes de la jeringa es suficiente para conservar la muestra; (3) cambiar la aguja usada en los pasos anteriores por una limpia y seca; (4) hacer presión sobre la vena máximo por treinta segundos, con la finalidad de no alterar los resultados; (5) obtener la sangre sin hacer vacío violento, evitando la formación de burbujas o espuma en la muestra; es suficiente con 1 mL de sangre; (6) rápidamente, proceder a la eliminación de burbujas en la jeringa y observar que salga una gota de sangre en la punta de la aguja; (7) tapar la punta de la aguja con masa (no es suficiente doblar la aguja); (8) depositar inmediatamente la jeringa en un recipiente de agua con hielo (0-4 ºC) a fin de bloquear el proceso de la glucólisis; (9) enviar al laboratorio. En el caso de colecta con sistema *vacutainer* la muestra recogida puede ir directamente al laboratorio. La determinación debe ser hecha en las primeras dos horas posteriores a la colecta de la muestra. En ocasiones es posible analizar la sangre de bovinos durante las veinticuatro horas siguientes usando tablas de corrección, para lo cual es importante indicar la hora de colecta de la muestra. Cuando el médico veterinario tenga dudas sobre el envío de muestras al laboratorio debe entrar en contacto directo con el patólogo clínico veterinario responsable, lo que permitirá a ambos tener un mejor intercambio de información y, de esa forma, hacer el clínico un uso más eficiente del laboratorio como herramienta de ayuda en sus diagnósticos.

9.3 Principales metabolitos sanguíneos y su interpretación

Ácidos grasos libres

Los ácidos grasos libres (AGL) en la sangre pueden ser de origen exógeno, provenientes de la digestión y absorción de grasas, o endógeno, provenientes de la lipólisis de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo. El nivel de AGL plasmático es indicador de la movilización de los depósitos grasos y, por tanto, del déficit energético. En terneros recién destetados los niveles de AGL suben abruptamente. La falta de alimento causa elevaciones de AGL en menos de cuarenta y ocho horas, siendo mejores indicadores del estatus energético que la glucosa o los cuerpos cetónicos. El limitante para su utilización como indicadores rápidos del equilibrio energético es la dificultad y el alto costo del análisis. Los niveles de AGL aumentan en la lactación, especialmente durante las primeras semanas, y disminuyen durante el período seco. Niveles sanguíneos de AGL superiores a 600 µmol/L en vacas lecheras lactantes son considerados resultado del estrés metabólico de la lactación. Existe correlación positiva entre los niveles sanguíneos de AGL y de cuerpos cetónicos. La oxidación excesiva de ácidos grasos, junto con la deficiencia aguda de energía en la dieta provoca en algunos casos, la cetosis. La mayoría de las vacas de alta producción lechera tiene algún grado de cetosis subclínica al inicio de la lactación, en función del balance energético negativo en ese período crítico. La habilidad metabólica para controlar el problema y evitar la manifestación de síntomas varía entre individuos. Ovejas al final de la gestación también pueden sufrir gran movilización de ácidos grasos y eventual cetosis, sobre todo en gestación gemelar. Concentraciones bajas de AGL no son frecuentes, excepto en la desnutrición severa.

Ácido úrico

El ácido úrico es producto del metabolismo de las purinas en los primates y en el perro de la raza Dálmata, representa el final del metabolismo de compuestos nitrogenados del organismo. En la mayoría de los

mamíferos este metabolismo ocurre convirtiendo el ácido úrico en alantoína. La mayoría del ácido úrico sintetizado proviene de la dieta y, en larga extensión, de la quiebra de ácidos nucleicos endógenos. Valores de ácido úrico por encima de la referencia pueden ser observados en neoplasias de células sanguíneas, en enfermedad hepática por incompleta conversión del ácido úrico a alantoína, en insuficiencia renal, endocrinopatías, aumentos del reciclaje de ácidos nucleicos, en la ingestión de sustancias tóxicas o drogas (salicilatos, tiazida), hipotiroidismo y, finalmente, en fallas genéticas de las enzimas necesarias para el metabolismo del ácido úrico. En las aves el ácido úrico es un buen indicador de la función renal.

Ácidos biliares

Los ácidos biliares (taurocólico y glucocólico) son sintetizados por el hígado a partir de colesterol y mediante conjugación (ácido cólico con taurina y glicina, respectivamente), siendo excretados junto con la bilis, en forma de sales de sodio. Durante la digestión actúan como agentes emulsificantes, favoreciendo la absorción da grasa. Por efecto de las bacterias intestinales los ácidos biliares son desconjugados, quedando libres para ser reabsorbidos por el intestino, direccionándose vía circulación portal al hígado para ser reciclados. Una pequeña parte de esos ácidos alcanza la circulación periférica, siendo estos los que son medidos. Normalmente ocurre leve aumento de los ácidos biliares luego de una refección. La medición de ácidos biliares en el suero puede servir como test sensible de evaluación de disfunción hepática, pues el hígado con disfunción no consigue captar los ácidos reabsorbidos y su concentración aumenta en el plasma. Una obstrucción hepática o biliar también es causa de aumento de los ácidos biliares. Un bajo valor de ácidos biliares puede indicar obstrucción intestinal. Se considera disfunción hepática cuando la concentración de ácidos biliares en ayuno o posprandial es mayor que 25 µmol/L (perro) o mayor que 20 µmol/L (gato). Una leve disminución en la concentración de ácidos biliares puede no ser conclusiva para determinar si hay mejora en la función hepática. El principal limitante de su utilización es el alto costo del análisis.

Albúmina

La albúmina es la proteína más abundante en el plasma, representa cerca de 50 % del total de proteínas. Tiene un peso molecular aproximado de 66 kD. Se sintetiza en el hígado y contribuye con 80 % de la osmolaridad del plasma sanguíneo, constituyéndose también en una importante reserva proteica, así como en un transportador de ácidos grasos libres, aminoácidos, metales, calcio, hormonas y bilirrubina. La albúmina desempeña además función importante en la regulación del pH sanguíneo actuando como anión. La concentración de albúmina es afectada por el funcionamiento hepático, la disponibilidad de proteínas en la dieta, el equilibrio hidroelectrolítico y pérdidas de la proteína en algunas enfermedades. La única causa de aumento de la albúmina plasmática (hiperalbuminemia) es la deshidratación.

La concentración de albúmina plasmática puede disminuir (hipoalbuminemia) en varias situaciones:

(a) Disminución de su síntesis debida a daño hepático crónico o déficit alimentario de fuentes proteicas. El nivel de albúmina puede ser indicador del contenido de proteína en la dieta, aunque los cambios ocurren lentamente. Para detectar cambios significativos en la concentración de albúmina sérica es necesario un período de por lo menos un mes, debido a la baja velocidad de síntesis y degradación. La media vida de la albúmina es de aproximadamente veinte días. Niveles de albúmina disminuidos, junto con disminución de urea, indican deficiencia proteica. Niveles de albúmina disminuidos con niveles de urea normales o elevados acompañados de niveles de enzimas altos son indicadores de falla hepática. En el proceso de hígado graso, como consecuencia de excesiva movilización de lípidos, evento común al inicio de la lactación debido a desequilibrio energético, puede ocurrir hipoalbuminemia en vacas lecheras.

(b) Pérdida de albúmina en parasitismos, a causa de la salida de proteínas por el intestino o en enfermedad renal (síndrome nefrótico, glomerulonefritis crónica, diabetes mellitus).

(c) En casos de síndrome de mala absorción.

(d) Catabolismo aumentado de la albúmina como consecuencia de déficit energético, lo que estimula la movilización de reservas de aminoácidos para entrar en la vía de la gluconeogénesis.

(e) fugas del sistema vascular (hemorragias).

La hipoalbuminemia puede afectar el metabolismo de otras sustancias debido al papel de la albúmina como transportador, además de causar caída de la presión osmótica del plasma, lo que puede llevar a ascitis, generalmente cuando la concentración de albúmina cae a menos de 20 g/L.

Cambios fisiológicos del nivel de albúmina pueden ser observados en vacas, cuando cae después del parto a menos de 30 g/L. Normalmente su nivel aumenta de manera progresiva durante el posparto a una tasa entre 37 y 69 mg/L por día, excepto en vacas con dietas pobres de proteína, en las cuales la concentración puede continuar baja en un período de hasta cuatro-seis meses posparto, lo cual afecta negativamente la fertilidad. La concentración sanguínea de albúmina ha sido relacionada de modo positivo con la producción de leche, observándose que vacas hipoalbuminémicas no producen todo su potencial. Una correlación negativa entre nivel de albúmina y edad puede ser consecuencia de la correlación positiva entre el nivel de globulinas y la edad.

Amonio

El amonio se produce en casi todas las células del organismo, sobre todo por las bacterias del tracto gastrointestinal resultado de la degradación de compuestos nitrogenados. El amonio es una sustancia tóxica que afecta en especial el sistema nervioso central. El amonio que se encuentra en el plasma proviene principalmente de la absorción intestinal, sobre todo en el colon, y en animales rumiantes la principal fuente es el rumen. Una pequeña parte deriva del metabolismo periférico, primordialmente del músculo esquelético. El amonio intestinal deriva de la degradación bacteriana de los aminoácidos de la dieta en el intestino, y de la urea endógena que se excreta en el intestino y el rumen. También puede ser producido por el hígado a partir del catabolismo de los aminoácidos tisulares y de la dieta, pero, en este caso, inmediatamente es convertido en urea. Por lo general el amonio transportado del tracto gastrointestinal se convierte en urea cuando alcanza el hígado y, por tanto, su nivel en la sangre tiende a ser bajo; no obstante, altos niveles de amonio pueden ser encontrados cuando hay inadecuada función hepática o cuando la sangre portal es desviada sin pasar antes por el hígado (desvío o *shunt* portosistémico). Niveles altos de amonio circulante, más que todo en situación posprandial, pueden afectar el encéfalo y provocar apatía o una serie de signos neurológicos (confusión, convulsión, andar en círculo). Esta condición es conocida como encefalopatía hepática. Los niveles de amonio también pueden estar aumentados en la ocurrencia de una infección, de una dieta con altos niveles de proteína, en desequilibrio ácido-básico (insuficiencia renal principalmente) y en obstrucción del tracto gastrointestinal.

Bilirrubina

La mayor parte de la bilirrubina en el plasma deriva de la degradación de los eritrocitos viejos por el sistema reticuloendotelial (mononuclear-fagocitario), sobre todo en el bazo. La bilirrubina restante proviene de la degradación de la mioglobina, de los citocromos y de eritrocitos inmaduros en la médula ósea. La hemoglobina liberada de los eritrocitos se divide en porción globina y grupo heme. Después de la extracción de la molécula de hierro, que queda almacenada o es reutilizada, el grupo heme se convierte en bilirrubina. La bilirrubina así formada es llamada bilirrubina libre, la cual es transportada hasta el hígado unida a la albúmina plasmática. Esa forma también es conocida como bilirrubina indirecta, y no es soluble en agua. Siendo liposoluble, no es filtrada por los glomérulos renales ni se excreta por la orina. La bilirrubina libre puede no estar ligada a la albúmina en tres situaciones: (a) cuando los niveles de albúmina son extremadamente bajos; (b) cuando existe alta competencia por los lugares de unión de la albúmina, por ejemplo, con tiroxina, salicilatos, sulfonamidas, digoxina, cortisol y diazepam; (c) cuando el nivel de bilirrubina libre es extremadamente alto (mayor que 20 mg/dL). En el hígado la bilirrubina se desliga de la albúmina y se conjuga con ácido glucurónico para formar bilirrubina conjugada. Esta es soluble en agua y secretada activamente por los canalículos biliares menores y luego excretada por la bilis. En el plasma se observan pequeñas cantidades de bilirrubina conjugada, la mayor parte de la bilirrubina plasmática es libre. La bilirrubina conjugada no puede ser reabsorbida en el intestino, pero las enzimas bacterianas presentes en íleo y colon convierten la bilirrubina en urobilinógeno fecal (estercobilinógeno), que es reabsorbido en torno de 10 % a 15 % por la circulación portal hasta el hígado. La mayoría de este urobilinógeno es reexcretada por la bilis, y una parte puede ser excretada por la orina. El urobilinógeno no reabsorbido en el intestino es

oxidado a estercobilina, pigmento responsable del color marrón de las heces.

El aumento de los niveles plasmáticos de bilirrubina puede ser debido al aumento de la bilirrubina libre en la hemólisis aguda, en absorción de un gran hematoma, en hemorragia interna masiva o en la transfusión de eritrocitos almacenados de manera inadecuada. Aumento de la bilirrubina conjugada ocurre en la pérdida de la funcionalidad hepatocelular debido a enfermedad infecciosa, daño tóxico u obstrucción del tracto biliar. Aumento de ambas bilirrubinas ocurre en pérdida de la funcionalidad hepatocelular, obstrucción del flujo biliar o después de hemólisis intravascular aguda.

Disminución de los niveles plasmáticos de bilirrubina se observa en enfermedades crónicas, principalmente las que cursan con disminución de la formación de los eritrocitos, causando anemia. En ese caso, debido al número reducido de eritrocitos, el sistema reticuloendotelial reduce la fagocitosis de los eritrocitos, lo que disminuye los niveles de bilirrubina en el plasma. Por tanto, la hipobilirrubinemia es debida a anemias hipoproliferativas atribuidas a una infección o inflamación crónica, neoplasia maligna o en la última fase de la enfermedad renal.

Calcio

En el plasma el calcio (Ca) existe en dos formas, libre ionizada (cerca de 45 %) y asociado a moléculas orgánicas, tales como proteínas, sobre todo albúmina (cerca de 45 %) o ácidos orgánicos (cerca del 10 %). El calcio total, como es medido por lo general en la sangre, contiene la forma ionizada, que es biológicamente activa, y la forma no ionizada. Estas dos formas están en equilibrio y su distribución final depende del pH, de la concentración de albúmina y de la relación ácido-base. Cuando existe acidosis hay tendencia a aumentar la forma ionizada de calcio. Una baja en el nivel de albúmina causa disminución del valor de calcio sanguíneo. El nivel de calcio en el plasma sanguíneo de la mayoría de especies animales, excepto las gallinas ponederas, es bastante constante, entre 8 y 12 mg/dL. El sistema endocrino presente en la vitamina D_3, la parathormona (PTH) y la calcitonina, responsables del mantenimiento de los niveles sanguíneos de calcio, actúa con bastante eficiencia para ajustarse a la cantidad de calcio disponible en el alimento y a las pérdidas que ocurren, en especial durante la gestación y la lactación. El firme control endocrino del calcio hace que sus niveles varíen muy poco (17 %) comparado con el fósforo (variación de 40 %) y el magnesio (variación de 57 %). Por tanto, el nivel sanguíneo de calcio no es un buen indicador del estado nutricional, mientras que los niveles sanguíneos de fósforo y magnesio reflejan directamente el estado nutricional con relación a esos minerales.

La hipocalcemia es frecuente en las vacas lecheras de alta producción, puede causar fiebre de leche o paresia del parto. La cantidad total de calcio en una vaca adulta está en torno de 6.000 g, 98 % de los cuales están almacenados en los huesos. Cerca del 1 % (60 g) se halla en la sangre y los tejidos blandos, en la corriente circulatoria hay cerca de 8 g. Una vaca que produzca 30 kg de leche, con contenido de 0,12 % de calcio, pierde diariamente cerca de 36 g de calcio, esto es, más de cuatro veces la cantidad de calcio sanguíneo. Se estima que durante el período de una lactación se pierde cerca del 18 % de mineral del esqueleto, por tanto, la tasa de reposición debe ser lo suficientemente rápida para cubrir la demanda y evitar la hipocalcemia. Cualquier interferencia con la absorción intestinal y la movilización ósea del calcio puede ser fatal. La absorción de calcio en el intestino disminuye con la edad. Animales más viejos sufren reducción en la capacidad de movilizar reservas de calcio cuando ocurren desequilibrios, siendo, por consiguiente, más susceptibles de sufrir hipocalcemia. La absorción de calcio en el intestino también es afectada por otros factores, tales como: (a) la relación Ca:P en los alimentos (la relación óptima es de 2:1); (b) la cantidad de proteína en la dieta, ya que la deficiencia de proteína causa menor absorción de calcio; (c) ingestión excesiva de magnesio, que interfiere con la absorción de calcio, por competición en las células intestinales; (d) dietas deficientes en magnesio, lo cual reduce la disponibilidad de calcio; (e) suplementación excesiva de vitamina D_3, que aumenta la absorción de calcio y puede causar calcificación de los tejidos blandos. La hipercalcemia es rara, pero podría ocurrir por intoxicación con vitamina D, neoplasias, hiperparatiroidismo primario y dietas ricas en calcio. En toros el exceso de calcio puede causar osteopetrosis (excesiva calcificación de los huesos).

Cloro

El cloro (Cl^-) es uno de los cuatro iones, junto con K^+, Na^+ y HCO_3^-, que son medidos en el plasma para determinar el equilibrio ácido-básico (*anion gap*) y electrolítico. Al ser un ion principalmente extracelular su concentración puede cambiar en respuesta a las variaciones de otros electrolitos a fin de mantener el equilibrio eléctrico de los fluidos corporales. En general su concentración está inversamente relacionada con la de HCO_3 y directamente relacionada con la de Na^+. Los cambios de Cl^- están regulados en especial por su excreción en el riñón. Cuando el Cl^- es reemplazado por otros aniones, como ácidos orgánicos, sin compensación de HCO_3 o Na^+, se configura una diferencia aniónica anormal. Una hipocloremia puede ser observada en la acidosis metabólica por acúmulo de ácidos orgánicos (cetosis, diabetes mellitus, acidosis láctica), en la acidosis respiratoria por acúmulo de CO_2, que lleva a un aumento de HCO_3 y en consecuencia baja del Cl^-, en el vómito continuo por pérdida de HCl, en la diarrea por pérdida de fluidos intestinales ricos en Cl^-, y en casos de disturbio renal por acúmulo de grupos fosfato ($H_2PO_4^-$) y sulfatos (HSO_4^-) que no se excretan y sustituyen el Cl^-. Una hipercloremia puede ser observada en la deshidratación y en la alcalosis respiratoria, debido a pérdida de CO_2 y por tanto de HCO_3, con aumento de Cl^- compensatorio. En trastornos del córtex adrenal la producción alterada de aldosterona puede llevar a cuadros de hiper- o hipocloremia.

Colesterol

El colesterol en los animales puede ser tanto de origen exógeno, proveniente de los alimentos, como endógeno, siendo sintetizado, a partir de acetil-CoA, en el hígado, las gónadas, el intestino, la glándula adrenal y la piel. La biosíntesis de colesterol en el organismo es inhibida con la ingestión de colesterol exógeno. El colesterol circula en el plasma unido a las lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL); en cerca de dos tercios es esterificado con ácidos grasos. Los niveles de colesterol plasmático son indicadores adecuados del total de lípidos en el plasma, pues corresponden a aproximadamente 30 % del total. El colesterol es necesario como precursor de los ácidos biliares, los cuales hacen parte de la bilis, y de las hormonas esteroides (adrenales y gonadales). Los estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afectan la compleja interrelación de las funciones hipofisiaria, tiroidiana y adrenal. Por tanto, los niveles de colesterol pueden dar una indicación indirecta de la actividad tiroidiana. El colesterol se excreta por la bilis, en la forma de ácidos biliares, o en la orina, en la forma de hormonas esteroides. Los niveles sanguíneos de colesterol pueden estar aumentados en el hipotiroidismo, por obstrucciones biliares, diabetes mellitus, pancreatitis, o cuando son utilizadas dietas ricas en carbohidratos o grasas. El nivel normal de colesterol es mayor en animales más viejos. Los niveles de colesterol tienen valores máximos durante la gestación en función del aumento de la síntesis de esteroides gonadales en esa fase. Por otro lado, las vacas lactantes pueden presentar hipercolesterolemia fisiológica. El aumento de colesterol durante la lactación ha sido atribuido al aumento en la síntesis de lipoproteínas plasmáticas. Niveles bajos de colesterol ocurren cuando hay deficiencia de alimentos energéticos. Su nivel también puede disminuir en una lesión hepatocelular, en el hipertiroidismo, en alimentación deficiente en energía y en enfermedades genéticas relacionadas con síntesis disminuida de apolipoproteínas del plasma. Los valores de colesterol al momento del parto son significativamente menores que durante los estados pre- y posparto. Al inicio de la lactación los valores de colesterol son bajos, aumentando progresivamente hasta la décima semana, para volver a caer al final del período. En animales monogástricos es recomendable que las colectas para medir colesterol sean hechas después de ayuno de doce horas.

Creatinina

La creatinina plasmática se deriva, prácticamente en su totalidad, del catabolismo de la creatina presente en el tejido muscular. La creatina es un metabolito utilizado para almacenar energía en el músculo, en la forma de fosfocreatina, y su degradación a creatinina ocurre de manera constante, alrededor de 2 % del total de creatina diariamente. La conversión de fosfocreatina o de creatina en creatinina es una reacción no enzimática e irreversible, dependiente de factores estequiométricos (**Figura 9.2**). En la **Figura 9.3** se presenta una visión general del metabolismo de la creatina, de la creatina fosfato y de la creatinina. La concentración sanguínea de creatinina es proporcional a la masa muscular; por ese motivo, en situaciones de atrofia muscular y otras enfermedades relacionadas ocurre disminución del nivel de creatinina plasmática. Al mismo tiempo, en situaciones de ejercicio prolongado o intenso pueden ser observados mayores niveles plasmáticos de creatinina.

En la práctica, la producción de creatinina es constante y muy poco afectada por aumento del catabolismo de las proteínas tisulares y de la dieta. La excreción de creatinina solo se realiza por vía renal, ya que ella no es reabsorbida ni reaprovechada por el organismo, por eso los niveles de creatinina plasmática reflejan la tasa de filtración renal, de forma que altos niveles de creatinina indican deficiencia en la funcionalidad renal.

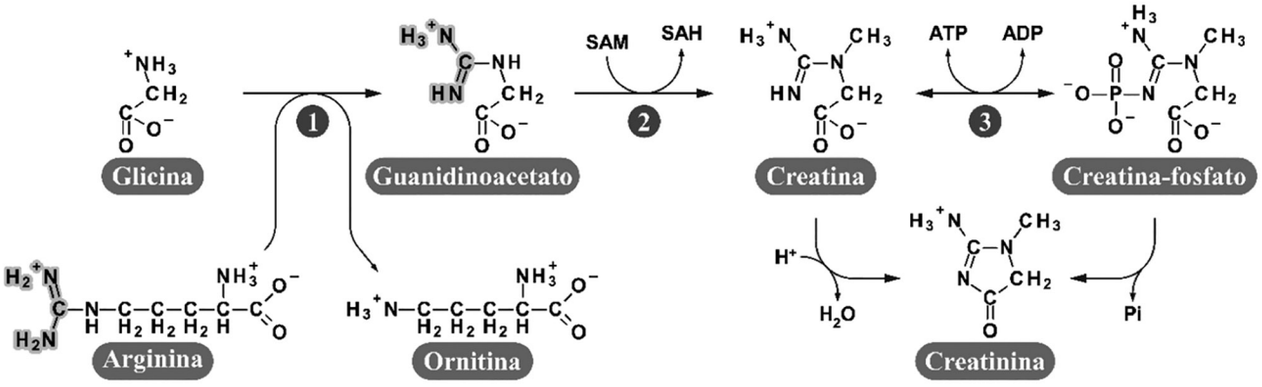


Figura 9.2 Biosíntesis de la creatina, de la creatina fosfato y de la creatinina

Las enzimas participantes son: [1] arginina-glicina amidinotransferasa, [2] guanidinoacetato metiltransferasa y [3] creatina quinasa. Las reacciones de formación de la creatinina a partir de la creatina o de la creatina fosfato son espontáneas e irreversibles, sin participación enzimática. (Consúltese la Figura 1.13 para detalles de la participación de la S-adenosil-metionina (SAM) como donante de radicales metilo y su posterior conversión en S-adenosil-homocisteína (SAH)). La arginina y la ornitina son intermediarios del ciclo de la urea (**Figura 3.4**).

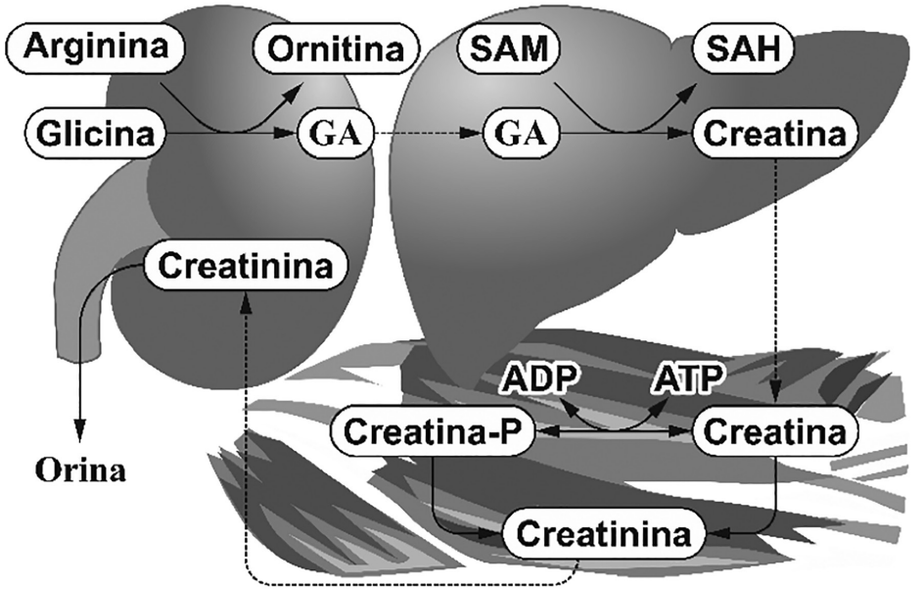


Figura 9.3 Visión general del metabolismo de la creatina, de la creatina fosfato y de la creatinina

La etapa inicial, con la formación del guanidinoacetato (GA) ocurre en los riñones. La etapa siguiente, con la formación de la creatina a partir del guanidinoacetato, ocurre en el hígado. Finalmente, la creatina muscular puede ser fosforilada a costa del ATP, generando creatina fosfato (creatina-P), la cual funcionará como una reserva de energía para la contracción muscular cuando el ATP no se encuentra disponible en cantidad suficiente. La creatinina, un producto de excreción formado constantemente, se elimina por la vía renal. La transferencia sanguínea de los metabolitos está representada con líneas punteadas.

Entre las causas de aumento plasmático de la creatinina deben ser consideradas: azotemia prerrenal por disminución de la perfusión renal, por ejemplo, en la deshidratación; azotemia renal, debido a insuficiencia renal; azotemia posrenal, por obstrucción del flujo urinario o ruptura de vejiga, o simplemente una actividad muscular intensa o prolongada. Entre las causas de la disminución de los niveles de creatinina en el plasma se consideran: hidratación excesiva, insuficiencia hepática y enfermedades musculares degenerativas.

Cuerpos cetónicos

Los cuerpos cetónicos, producto del metabolismo de los ácidos grasos, son el β-hidroxibutirato (BHB), el acetoacetato y la acetona. En situaciones donde hay deficiencia de energía el acetoacetato, producido normalmente en el metabolismo de los ácidos grasos, no puede ser metabolizado y sufre reducción a BHB o descarboxilación hasta acetona. La cetosis o acetonemia es una condición caracterizada por aumento anormal en la concentración de cuerpos cetónicos en los fluidos corporales (sangre, orina, leche y saliva). Esta condición es común encontrarla en situaciones como diabetes mellitus, ayuno prolongado, mala nutrición y mala absorción. La cetosis está por lo general asociada a hipoglucemia. Este síndrome, denominado acetonemia, es bastante frecuente en bovinos, más en vacas lecheras de alta producción, debido a un balance nutricional negativo, pues el animal necesita de mucha energía para la producción de leche y no consigue mantener equilibrada su glucemia, ocurriendo así una movilización lipídica que dará origen al aumento de los cuerpos cetónicos en el plasma. Aumentar solo la cantidad de alimento puede no resolver el problema, ya que esos animales tienen una capacidad máxima admisible en el tracto gastrointestinal.

Dióxido de carbono

El dióxido de carbono (CO_2) es el producto final del metabolismo. En presencia de la enzima anhidrasa carbónica, el CO_2 y el agua forman el ácido carbónico (H_2CO_3), que luego se disocia a bicarbonato e hidrógeno. Esos compuestos son responsables del equilibrio ácido-básico y el control del pH plasmático, actuando como un sistema tampón. La determinación de dióxido de carbono en el plasma es realizada para evaluar el balance ácido-básico y la capacidad tamponante del plasma. La concentración de dióxido de carbono en el plasma puede ser regulada a través de su excreción vía respiración. Niveles aumentados de dióxido de carbono están relacionados con alcalosis metabólica, hipocalemia y acidosis respiratoria. Niveles por debajo de la referencia son encontrados cuando ocurre acidosis metabólica (debido a insuficiencia renal), diarrea, hipotensión, alcalosis respiratoria y deshidratación.

Hierro

El hierro (Fe) es un constituyente esencial de la porción heme de la hemoglobina. Esta proteína es continuamente degradada y sintetizada en función de la vida media de los eritrocitos, de forma que el hierro se recicla continuamente. Una proteína β-globulina, denominada transferrina, transporta el hierro vía sanguínea a todo el organismo. El hierro derivado de la degradación de la hemoglobina es captado por el sistema mononuclear fagocitario y puede ser almacenado en el sistema reticuloendotelial (bazo, hígado y médula ósea) en la forma de ferritina y hemosiderina, proteínas almacenadoras del mineral. Pérdidas de hierro ocurren inevitablemente, sobre todo por las células epiteliales del tracto gastrointestinal. La principal fuente de hierro en la dieta es la carne. La tasa de absorción es determinada por la cantidad de hierro almacenado y por la tasa de producción de eritrocitos. Los valores de hierro pueden estar aumentados en el plasma debido a varios factores, tales como anemia hemolítica (ocurre liberación de hierro de los eritrocitos), enfermedades hepáticas (local de almacenamiento del hierro en la forma de hemosiderina y ferritina), leucemia aguda, niveles altos de sustancias estrogénicas, transfusión sanguínea, nefritis, administración parenteral excesiva de hierro o exceso de hierro en la dieta. Niveles de hierro por debajo de la referencia indican deficiencia de hierro en la dieta, problemas de mala absorción, anemia, infección crónica, uremia, síndrome nefrótico o α-transferrinemia congénita.

Fósforo

El fósforo (P) existe en combinaciones orgánicas dentro de las células, pero el interés principal en el perfil metabólico reside en el fósforo inorgánico presente en el plasma. La manutención del nivel de fósforo en la sangre es gobernada por los mismos

factores que promueven la asimilación del calcio. Sin embargo, en la interpretación del perfil los dos minerales indican diferentes problemas. Por otro lado, el control de la concentración de calcio vía endocrina es más riguroso, y el nivel de fósforo inorgánico en el plasma sanguíneo de los bovinos por lo general oscila bastante más que el nivel de calcio. Los niveles de fósforo son particularmente variables en el rumiante, en función de la gran cantidad que se recicla vía saliva y su absorción en el rumen e intestino. La interrupción del ciclo lleva a hipofosfatemia. Normalmente la pérdida de fósforo en las secreciones digestivas en el bovino llega a 10 g/día. Por otro lado, el fósforo en el rumen es necesario para la normal actividad de la microflora y, por tanto, la normal digestión. La disponibilidad de fósforo alimentario disminuye con la edad (90 % en terneros, 55 % en vacas adultas), por lo cual los niveles sanguíneos de fósforo son menores en animales más viejos. Deficiencias de fósforo no tienen efectos inmediatos, como en el caso del calcio, aunque a largo plazo pueden causar crecimiento retardado, osteoporosis progresiva, infertilidad y baja producción. La deficiencia severa de fósforo manifestada por niveles sanguíneos menores 3,0 mg/dL lleva a depravación del apetito. La hipofosfatemia es observada en dietas deficientes de fósforo, y más común en suelos deficientes de fósforo, principalmente durante el otoño/invierno y en vacas de alta producción lechera. Existen muchas áreas deficientes en fósforo (McDowell, 1999). Varios trabajos muestran deficiencias en África (Senegal, Kenia), Europa (Irlanda, Escocia), Australia y América Latina (Brasil, Costa Rica, entre otros).

En la leche la relación Ca:P es de casi 1:1. No obstante, la relación Ca:P óptima para absorción en los alimentos es de 2:1, la misma que existe en los huesos. Así, la excreción de fósforo por la leche es mayor, especialmente en vacas en producción. En estos animales una alimentación con concentrados (rica en fósforo) puede evitar problemas de deficiencia. Por lo general los pastos son abundantes en calcio y deficientes en fósforo, así que ocurre una relativa deficiencia de fósforo y exceso de calcio; no obstante, los rumiantes están bien adaptados para compensar altas relaciones Ca:P (hasta más de 3:1). Por otro lado, el exceso de suplementación con calcio y fósforo puede causar disminución de la absorción intestinal de otros minerales, tales como magnesio, zinc, manganeso y cobre. Dietas con exceso de cereales, especialmente trigo, que contienen alto tenor de fósforo, pueden causar hiperfosfatemia en ovejas y cabras, a consecuencia de lo cual podría ocurrir urolitiasis. Lo mismo puede ocurrir en ganado sobrealimentado con concentrados y en perros y gatos con dietas únicas de carne.

Fructosamina

La fructosamina se refiere a un término que engloba las proteínas plasmáticas glucosiladas. Se forma a partir de la reacción no enzimática y reversible de moléculas de glucosa con grupos aminas de residuos de lisina de las proteínas en la sangre, formando complejos de aldimina (base de Schiff) que se convierten, a través de la transposición de Amadori, en un compuesto estable de cetoamina (**Figura 9.4**). Como la albúmina responde por cerca de 50 % de las proteínas del plasma, la fructosamina corresponde a esa fracción de proteína glucosilada. El valor de las proteínas glucosiladas del plasma da una idea de la concentración de glucosa durante el período correspondiente a la vida media de la proteína. Como la vida media de la albúmina es de cerca de veinte días, la concentración sanguínea de fructosamina ofrece un indicador de la glucemia en aproximadamente las últimas dos semanas antes de la colecta. Se recomienda que cada laboratorio tenga sus propios valores de referencia para obtener una interpretación adecuada, debido a la gran variabilidad de resultados encontrados en la literatura. Valores de referencia en perros sanos pueden estar entre 200 y 300 µmol/L. Perros diabéticos presentan valores mayores que 450 µmol/L. El valor de referencia en gatos es del orden de 219-347 µmol/L. La fructosamina puede disminuir cuando ocurre mayor *turnover* de proteínas, como en casos de hipertiroidismo, y sucede lo inverso en casos de hipotiroidismo. En los casos de pacientes con esos trastornos se deben considerar dichos efectos al determinar la fructosamina.

Globulinas

La concentración de globulinas se obtiene por cálculo de la diferencia de concentración entre las proteínas totales y la albúmina. Las globulinas pueden ser divididas en tres tipos: α, β, γ, identificadas mediante electroforesis. Ellas tienen funciones en el transporte de metales, lípidos y bilirrubina, así como en la inmunidad (fracción γ). Las globulinas son indicadores limitados del metabolismo proteico, con más importancia como indicadores de procesos inflamatorios. Altos niveles de

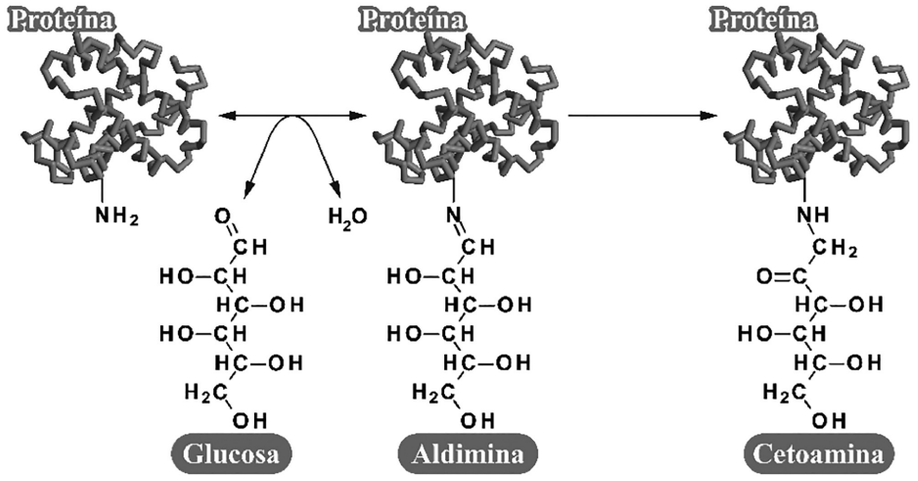


Figura 9.4 La glucosilación de proteínas y la formación de las fructosaminas

Los grupos amino de la proteína reaccionan reversiblemente, sin intervención enzimática, con moléculas de glucosa, inicialmente formando una aldimina (1-imino-1-desoxiglucosa) y luego una cetoamina (1-amino-1-desoxifructosamina).

globulinas están asociados a enfermedades infecciosas o a vacunaciones recientes. Las globulinas aumentan con la edad, tal vez por mayor 'experiencia' inmunológica, y durante la gestación. Existe correlación negativa entre la concentración de albúmina y globulinas; así, un aumento en las globulinas debido a estados infecciosos inhibe la síntesis de albúmina en el hígado como mecanismo compensatorio para mantener constante el nivel proteico total y, por tanto, la presión osmótica sanguínea. Por otra parte, en la disfunción hepática el nivel de albúmina cae y el de globulinas aumenta. Cambios en los niveles de las globulinas pueden ser usados para evaluar estados de adaptación al estrés. Animales adaptados tienden a tener niveles normales, mientras que los no adaptados tienen los niveles aumentados. La concentración de globulinas disminuye al final de la gestación debido al paso de gamaglobulinas para el calostro. En terneros la hipoglobulinemia es indicativo de que la ingestión de calostro fue poca, lo que los predispone a sufrir enfermedades, en especial diarreas por colibacilosis. La concentración de globulinas también disminuye semanas antes del parto, recuperando sus valores hasta tres semanas después del parto.

Glucosa

Entre los metabolitos usados como combustible para la oxidación respiratoria, la glucosa es considerada el más importante, es vital para funciones como el metabolismo del cerebro y la lactación. El nivel de glucosa sanguínea puede indicar fallas en la homeostasis, cual ocurre en enfermedades como la cetosis. En la digestión de los rumiantes poca glucosa proveniente del tracto digestivo entra en la corriente sanguínea. El hígado es el órgano responsable de su síntesis a partir de moléculas precursoras en la vía de la gluconeogénesis. Así, en los rumiantes el ácido propiónico produce 50% de los requerimientos de glucosa, los aminoácidos gluconeogénicos contribuyen con 25%, y el ácido láctico con 15%. Otro precursor importante es el glicerol. El nivel de glucosa tiene pocas variaciones, en función de los mecanismos homeostáticos bastante eficientes del organismo, los cuales comprenden el control endocrino por parte de la insulina, del glucagón sobre el glucógeno y de los glucocorticoides sobre la gluconeogénesis. Cuando el suministro energético es inadecuado esas hormonas estimulan la degradación de glucógeno hepático y la síntesis de nueva glucosa en el hígado, y cuando el balance energético se torna negativo estimulan la movilización de triglicéridos para suministrar ácidos grasos como fuente de energía y glicerol como precursor de glucosa hepática.

La dieta tiene poco efecto sobre la glucemia, en función de los mecanismos homeostáticos, excepto en animales con severa desnutrición. Bajo alimentación sin deficiencia o exceso drásticos de energía el nivel de glucosa no es buen indicador del nivel energético de la dieta. No obstante, el hecho

de ser un metabolito vital para las necesidades energéticas del organismo justifica su inclusión en el perfil metabólico. La concentración de glucosa puede aumentar en el estrés crónico. La diabetes mellitus, más frecuente en monogástricos que en rumiantes, se caracteriza por cuadro de hiperglucemia y glucosuria. La glucemia puede disminuir con la edad. Estados hipoglucémicos en vacas lecheras están asociados a cetosis y deficiencias severas de energía o, en menor grado, a producciones elevadas de leche. El nivel de glucosa tiende a disminuir con producciones de leche por encima de 30 L/día. En la lactación el suministro de glucosa en la vaca es importante, sobre todo cuando alcanza el máximo de producción, pues la glándula mamaria necesita de glucosa para la síntesis de lactosa. Cuando ocurre hipoglucemia en la lactación (glucemia menor que 35 mg/dL) disminuye la producción de leche como forma de compensación. En casos extremos puede sobrevenir cetosis. En las vacas de alta producción lechera los requerimientos energéticos son cubiertos por la alimentación adecuada y gluconeogénesis normal. La primera debe adaptarse a las necesidades particulares de los rumiantes (la fibra es importante en el periparto) y la segunda solo es realizada si el hígado está funcionando de manera normal. Ante falla en la alimentación o en la gluconeogénesis ocurre movilización de triglicéridos que sirven como fuente de energía. La falta de oxalacetato lleva al aumento de los cuerpos cetónicos y, eventualmente, a cetosis. Por otra parte, la excesiva movilización de lípidos puede llevar a infiltración grasa en el hígado, aumentando la falla hepática y, eventualmente, causando cirrosis.

En condiciones de campo, a diferencia de las experimentales, en ocasiones ocurre hipoglucemia, y cualquiera sea la causa ella indica un estado patológico con importantes implicaciones en la salud y la producción. En caballos subalimentados se presentan con frecuencia hipoglucemia e hiperlipidemia. La movilización de lípidos en esta especie puede ser excesiva y causar daño hepático, a veces fatal. El nivel de glucosa en los rumiantes tiende a ser menor en el tercio final de la gestación que en los períodos anteriores, esto es, los niveles tienden a disminuir a medida que la gestación avanza. Se sabe que el feto *in utero* demanda glucosa como mayor fuente de energía. Sin embargo, al momento del parto la glucemia tiene un aumento agudo, tal vez debido al estrés. En el período posterior al parto los niveles caen de nuevo, especialmente en la primera semana y en vacas de alta producción lechera.

Hemoglobina

La función de la hemoglobina (Hb) es transportar oxígeno en la sangre. Está compuesta por cuatro subunidades que contienen la fracción heme, en complejo con la proteína globina. El grupo heme está encargado de transportar el oxígeno. La Hb es producida por los eritrocitos inmaduros (reticulocitos) y su degradación lleva a la formación de bilirrubina. Casi toda la Hb está localizada en el eritrocito, aunque una mínima fracción puede ser encontrada en el plasma como resultado de la degradación eritrocítica. La concentración de Hb aumenta con la edad y en la deshidratación. La Hb disminuye en el período final del parto y durante el posparto. La baja de la Hb al final del parto puede estar relacionada con la transferencia indirecta de Hb materna para la sangre fetal, lo que es posible mediante la degradación de los eritrocitos en los cotiledones y la transferencia de hierro del grupo heme de la Hb, aumentando, por tanto, el nivel de bilirrubina en la sangre materna. La reducción del nivel de hemoglobina y del hematocrito indica anemia, la cual puede ser causada por varios factores: (a) deficiencia de proteínas o de algunos minerales, más que todo hierro, cobre y cobalto; (b) hemólisis por intoxicaciones, defectos congénitos, porfirias; (c) hematozoarios e infestación por nemátodos; (d) infecciones virales específicas. En general, la anemia representa una señal de alerta para que sean tratados los problemas causantes. La anemia se configura cuando la concentración de Hb es menor que 8 g/dL o el hematocrito es menor que 25 %. Después del parto es normal observar anemia subclínica por hemodilución, debido al ajuste circulatorio a las necesidades hídricas y metabólicas como resultado del funcionamiento de la glándula mamaria. Sin embargo, si la anemia se prolonga por más de cuatro semanas posparto puede ser indicación de algún problema, generalmente deficiencia de nutrientes o falla hepática. Las anemias subclínicas están asociadas a baja fertilidad. En terneros la anemia causa crecimiento retardado. En lechones es indispensable la suplementación con hierro porque la leche de la cerda es deficitaria en ese mineral. La anemia puede llevar a disminuirse la tolerancia al ejercicio en caballos y perros. La deficiencia de cobre, que es causa de anemia, puede ser exacerbada por exceso de Mo o de sulfatos.

Hemoglobina glucosilada

Corresponde a la fracción glucosilada de la hemoglobina, en especial de la fracción HbA_1 una vez que el eritrocito es libremente permeable a la glucosa, siendo entonces denominada HbA_{1c}. La glucosilación de la hemoglobina es directamente proporcional a la concentración de glucosa sanguínea, tornando la mensuración de la hemoglobina glucosilada en una importante herramienta para la verificación de hiperglucemia crónica. El valor de la HbA_{1c} revela valores de glucemia de acuerdo con el período de vida media de los eritrocitos. Como la vida de los eritrocitos caninos está en torno de ciento diez a ciento veinte días (vida media de sesenta días), la medida de este metabolito permite obtener una verificación de la glucemia en los últimos dos meses antes de la colecta. En los gatos el período de glucemia suministrado por la HbA_{1c} corresponde a los últimos cuarenta días (vida media de los eritrocitos de setenta días). El método de análisis (cromatografía + espectrofotometría) es más oneroso que el de la fructosamina, por lo cual en la rutina clínico-laboratorial veterinaria se prefiere medir la fructosamina como indicador de glucemia crónica.

Lactato

El lactato es un producto intermediario del metabolismo de los glúcidos, siendo el producto final de la glucólisis anaeróbica. En presencia suficiente de oxígeno y una moderada tasa de glicólisis el ácido pirúvico entra al ciclo de Krebs, generando CO_2 y H_2O. Cuando el ácido pirúvico es producido en una cantidad mayor de la que consiga utilizar, u ocurre condición de anaerobiosis, el ácido pirúvico se convierte en ácido láctico. En condiciones normales la mayoría del lactato es producida por los eritrocitos, pero durante ejercicio o actividad física intensa el músculo produce grandes cantidades de lactato, debido a su insuficiente oxigenación en esas situaciones. Las condiciones patológicas que aumentan el lactato plasmático se agrupan en trastornos del músculo esquelético, cardiomiopatías, diabetes mellitus (donde el lactato y el piruvato están aumentados), deficiencia de tiamina, trastornos hepáticos, enfermedad genética en la cual ocurre falla en las enzimas responsables del almacenamiento de glucógeno, toxemia de la gestación, hipoxia, choque y reducción de la presión sanguínea, y anemia, en la que sucede reducción de la capacidad de oxigenación. En rumiantes puede ocurrir también aumento del lactato sanguíneo en la llamada acidosis láctica o indigestión láctica, trastorno observado en animales que tienen cambios súbitos de dieta de forraje a concentrado, donde hay rápida fermentación de carbohidratos solubles con alta producción de lactato.

Lípidos totales

Los lípidos encontrados en el plasma se dividen en tres grandes grupos: colesterol, fosfolípidos y grasas neutras (triglicéridos). Cambios en la composición y concentración plasmática de los lípidos pueden ser observados en varias condiciones fisiológicas, por ejemplo, en animales jóvenes, en los cuales hay bajas concentraciones de lípidos totales, o durante la gestación, cuando ocurre un aumento considerable de lípidos totales en el plasma. Condiciones patológicas que cursan con aumento de los lípidos totales plasmáticos son: nefrosis, cirrosis, hepatitis aguda, hipotiroidismo y caquexia. Disminución en los niveles plasmáticos de lípidos totales puede ser debido a anemia, infección aguda o hipertiroidismo. Es normal encontrar aumento en los niveles de lípidos totales en vacas lecheras de alta producción durante el posparto.

Magnesio

No existe un control homeostático riguroso del magnesio (Mg) y, por tanto, su concentración sanguínea refleja directamente el nivel de la dieta. El control renal de magnesio está más direccionado a prevenir la hipermagnesemia, mediante la excreción del exceso de magnesio por la orina. Ante una deficiencia de magnesio sus niveles en la orina caen a prácticamente cero; así, los niveles de magnesio en la orina son buenos indicadores de la ingestión del mineral en los alimentos. La hipomagnesemia tiene serias consecuencias para los rumiantes, ya que puede llevar a la muerte, mientras que la hipermagnesemia no causa mayor trastorno. La hipomagnesemia o tetania hipomagnesémica constituye un trastorno de la producción, generalmente causada por la baja ingestión de magnesio en la dieta. La hipomagnesemia puede causar, además de la tetania, hiperexcitabilidad, retención de placenta, así como anormalidad de la digestión ruminal y disminución de la producción de leche. También predispone a la presentación de fiebre de leche en vacas después del parto, por causa de que bajos niveles de magnesio (menores que 2 mg/dL) reducen drásticamente la capacidad de movilizar las reservas de calcio de los

huesos. El magnesio está más disponible en forrajes secos y en concentrados (10%-40%) que en pastos frescos (5%-33%). Pastos jóvenes con altos niveles de proteína y potasio inhiben la absorción de magnesio. El magnesio es absorbido en el intestino mediante un sistema de transporte activo que puede ser interferido por la relación Na:K y aun por la cantidad de calcio y fósforo presentes en el alimento. La hipomagnesemia también puede ser consecuencia de una excesiva lipólisis por deficiencia de energía.

El magnesio es un mineral no esencial para el crecimiento de los pastos. El potasio, que es esencial, muchas veces está en exceso, más que todo a causa de los fertilizantes; ese potasio en exceso inhibe la absorción intestinal de magnesio y, asociado a la deficiencia de este, puede llevar fácilmente a la hipomagnesemia. El nivel de magnesio en el perfil metabólico puede indicar estados subclínicos antes de surgir el problema (valor de referencia: 2-3 mg/dL), siendo en especial útil antes del parto para evitar problemas de tetania en el posparto, por lo general complicados con fiebre de leche. Se configura hipomagnesemia en rumiantes con valores de magnesio abajo de 1,75 mg/dL, apareciendo signos clínicos con concentraciones menores de 1 mg/dL. Los niveles de magnesio en la orina pueden ser indicativos de deficiencia cuando están abajo de 0,5 mg/dL (el valor de referencia de magnesio en la orina es de 10-15 mg/dL). Es aconsejable hacer monitoreo de los niveles de magnesio en sangre o en orina a lo largo del año para prevenir hipomagnesemia. La leche es relativamente deficiente en magnesio, por lo cual se recomienda suplementar a los animales lactantes.

Potasio

El potasio (K) es el catión intracelular más abundante del organismo. En la mayoría de los animales la concentración de potasio en la célula es similar a la de sodio fuera de esta. Ese catión, cuando está presente en el fluido extracelular, está relacionado con el proceso de excitación nerviosa y muscular. La concentración sérica de potasio es controlada a través de su continua filtración por el riñón. El potasio se encuentra en la saliva, el jugo gástrico, la bilis, el jugo pancreático y los líquidos intestinales. Cualquier situación patológica que interfiera con la absorción o reabsorción de potasio en el riñón o que implique pérdida de líquidos corporales ricos en potasio, alteran su concentración sérica.

Situaciones en que puede ser encontrado aumento en los niveles séricos de potasio (hipercalemia) son debidas a excreción reducida, como en: hipoadrenocorticismo, tratamiento con espirinolactona (usada en aldosteronismo), baja ingestión de sodio, fase oligúrica de la insuficiencia renal (principalmente insuficiencia renal aguda), ruptura vesical, o cuando ocurre redistribución de potasio del espacio intracelular al líquido extracelular, ejemplo, en casos de acidosis (sobre todo metabólica), hiperosmolaridad del plasma, daño tecidual extenso (quemadura) y trombocitosis.

Situaciones en que es encontrado un nivel bajo de potasio sanguíneo (hipocalemia) incluyen disminución de la ingestión de potasio o aumento de pérdida de este elemento, ejemplos; en vómito y diarrea persistente, terapias de diuréticos, uso excesivo de mineralocorticoides, enfermedad hepática crónica, fase poliúrica de la insuficiencia renal crónica, o por redistribución de potasio del líquido extracelular para el espacio intracelular, como en alcalosis, hiperinsulinemia y recuperación de traumatismo grave.

Proteínas totales

Las principales proteínas plasmáticas son la albúmina, las globulinas y el fibrinógeno, las cuales se hallan presentes en múltiples funciones: (a) manutención de la presión osmótica y la viscosidad de la sangre; (b) transporte de nutrientes, metabolitos, hormonas y productos de excreción, (c) regulación del pH sanguíneo, y (d) participación en la coagulación sanguínea. Las proteínas sanguíneas se sintetizan principalmente en el hígado, de modo que la tasa de síntesis está directamente relacionada con el estado nutricional del animal, en especial con los niveles de proteína y vitamina A, y con la funcionalidad hepática.

La concentración de proteínas totales puede estar aumentada en la deshidratación por hemoconcentración. Algunos autores señalan que los animales más viejos tienen mayores valores de proteína sanguínea que los más jóvenes, tal vez por presentar más eficiencia metabólica en utilización de la proteína. La fracción proteica responsable de ese aumento parece ser la de las globulinas, en particular la fracción gama.

La concentración de las proteínas totales se encuentra disminuida en fallas hepáticas, trastornos intestinales y renales, hemorragia, o por deficiencia

en la alimentación. En estados de inanición la proteína de reserva, sobre todo del músculo y del hígado, se degrada para servir de fuente de glucosa, al tiempo que ocurre disminución de las proteínas totales del plasma, provocando baja en la osmolaridad plasmática, lo que puede resultar, en casos extremos, en salida de líquidos de la corriente circulatoria a los tejidos (edema). Dietas con menos de 10 % de proteína causan disminución de los niveles proteicos en la sangre. Fisiológicamente la concentración de proteínas puede caer en la semana anterior al parto, recuperándose después del parto. Vacas secas pueden tener mayores valores de proteínas que vacas en lactación o en gestación. Dietas con deficiencia de proteína al inicio de la lactación impiden la recuperación de los niveles sanguíneos proteicos en el posparto y llevan, por tanto, a una reducción de la producción lechera.

Sodio

El sodio (Na) está presente con preponderancia en el líquido extracelular y determina, en gran parte, el volumen de este líquido y de la osmolaridad del plasma. El nivel de sodio en las células se mantiene bajo gracias a una membrana celular relativamente impermeable a la entrada de sodio y a una bomba que retorna el sodio de la célula al líquido extracelular. Los riñones regulan la cantidad de sodio del organismo y controlan también la de agua, manteniendo así la concentración plasmática de sodio dentro de límites estrechos, a pesar de las fluctuaciones debido a la ingesta diaria. Un aumento en los niveles plasmáticos de sodio es producido por mayor ingestión de sodio, pérdida excesiva de agua o fluidos (poliuria, vómito, diarrea), o por ingestión inadecuada de agua (falta o incapacidad de beber). Una disminución en los niveles plasmáticos de sodio puede deberse a pérdidas de este electrolito en la diuresis osmótica, en la deshidratación grave, en la fase poliúrica de la insuficiencia renal aguda, o en la polidipsia psicogénica; en estos casos se observa aumento de la presión sanguínea y disminución de la presión osmótica coloidal.

Triglicéridos

Los triglicéridos (TG) formados en las células de la mucosa intestinal a partir de los monoglicéridos y ácidos grasos de cadena larga absorbidos, son transportados por los vasos linfáticos como quilomicrones y luego entran en la circulación sanguínea. Los quilomicrones se forman prácticamente en su totalidad por triglicéridos (80 %-95 %), además de pequeñas cantidades de colesterol, fosfolípidos y una proteína plasmática que les da solubilidad. Los TG ligados a los quilomicrones son considerados TG exógenos. Los TG formados en el hígado son transportados en la sangre en la forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Esos compuestos constan de triglicéridos (en torno de 60 %), colesterol, fosfolípidos y proteínas plasmáticas. Los TG ligados a la VLDL se consideran TG endógenos. Los niveles de TG plasmáticos aumentan después de ingerir alimentos ricos en grasa, en casos de deficiencia en la actividad de la enzima lipasa lipoproteica, lo que ocurre secundariamente a procesos como diabetes mellitus o por falla genética en la actividad de esta enzima.

Urea

La urea se sintetiza en el hígado a partir de amonio proveniente del catabolismo de los aminoácidos y del reciclaje de amonio del rumen. Los niveles de urea son analizados con relación al nivel de proteína en la dieta y al funcionamiento renal. La urea se excreta por la orina y, en menor grado, por el intestino y la leche. En la mayoría de los animales (excepto en aves, que excretan ácido úrico), el nivel de urea es indicador del funcionamiento renal. En la insuficiencia renal puede ser observada azotemia (aumento en los niveles sanguíneos de urea y creatinina). También puede ocurrir azotemia por causas prerrenales, que incluyen deshidratación, choque hipovolémico e hipotensión, así como por causas posrenales, en especial obstrucción del tracto urinario. Los niveles de urea sanguínea también están afectados por el nivel nutricional, sobre todo en rumiantes. De modo general, la urea es un indicador sensible e inmediato de la ingestión de proteína, mientras que la albúmina es indicador a largo plazo del estado proteico. Por otra parte, una dieta baja en proteínas afecta poco la concentración de globulinas.

La concentración de urea puede estar aumentada en alimentación con exceso de proteína o de fuentes de nitrógeno no proteico, como la propia urea, que es usada en rumiantes en hasta 3 % de la dieta. No obstante, en estos animales también se encuentran niveles aumentados de urea cuando ocurre deficiencia de energía, debido a la disminución de capacidad de la microflora ruminal en utilizar los compuestos nitrogenados para la síntesis de proteínas, aumentando la cantidad de amonio absorbido en el rumen. El

adecuado suministro de glúcidos en la dieta, cuando hay suplementación de compuestos nitrogenados, evita el aumento excesivo de los niveles de urea sanguínea, por la utilización por las bacterias del rumen de la urea y de los glúcidos para sintetizar aminoácidos y proteína. El ayuno prolongado puede causar aumento de la proteólisis endógena para utilizar aminoácidos como fuente energética, lo que causa mayor concentración de urea, lo cual es frecuente en terneros con diarrea, cuando el consumo de alimento llega a ser nulo. En estos casos el cuadro es exacerbado por la deshidratación, pues el flujo de orina disminuye e inhibe la excreción renal de urea, lo que puede causar uremia.

En rumiantes ocurre disminución de los niveles de urea sanguínea por dietas deficientes en compuestos nitrogenados. El balance nitrogenado en esas especies puede ser estudiado con base en los niveles de urea tanto en la sangre como en la leche. Los valores de urea sanguínea disminuyen poco antes y después del parto, incluso en vacas con adecuados niveles de proteína en la dieta.

Es importante considerar cuando se expresa un resultado en urea o N ureico, ya que el valor de urea es 2,14 veces mayor que el de N ureico. También debe ser observada la unidad en que se expresa el resultado, porque el Sistema Internacional de Unidades utiliza mmol/L, mientras que algunos laboratorios entregan el resultado en el sistema convencional de medida, esto es, mg/dL. Es posible convertir fácilmente las unidades de un sistema a otro utilizando el factor 0,167 (1 mg/dL = 0,167 mmol/L).

9.4 Perfil enzimático

La enzimología clínica es de gran ayuda diagnóstica, principalmente con relación a las enzimas presentes en la corriente sanguínea, varias de las cuales se incluyen en el estudio del perfil metabólico sanguíneo (**Tabla 9.3**).

La medición de la actividad enzimática en el plasma como ayuda diagnóstica está fundamentada en los siguientes conceptos:

(a) En el plasma sanguíneo pueden ser encontradas enzimas cuya síntesis y función son ejercidas a nivel intracelular, pero que pueden salir a la corriente circulatoria después de la muerte celular. En condiciones normales esas enzimas tienen baja actividad en el plasma. Otras enzimas que también son producidas en el espacio intracelular pueden ser secretadas para actuar fuera de las células, como es el caso de las enzimas de la coagulación sanguínea (trombina).

(b) Como la concentración intracelular de las enzimas es bastante mayor que en el plasma, daños celulares relativamente pequeños pueden llevar a aumentos significativos de la actividad de las enzimas en el plasma.

(c) Aumentos de la actividad enzimática en el plasma permiten hacer inferencia sobre el lugar y el grado del daño celular, ya que muchas enzimas son específicas de órganos (**Tabla 9.3**).

El grado de alteración puede ser determinado por la actividad de enzimas asociadas a diferentes compartimientos celulares. Así, en daños tisulares severos aparece mayor actividad de enzimas mitocondriales (ej. GLDH) y en daños menores actividad de enzimas citoplasmáticas (ej. ALT) o de membrana (ej. FA).

(d) Los niveles enzimáticos en el plasma están influenciados por la velocidad con que entran en la corriente circulatoria, lo que a su vez depende del daño celular y la tasa de inactivación enzimática (vida media de la enzima).

(e) El evento que interesa en la determinación enzimática es el aumento de la actividad, no teniendo importancia por lo general la disminución.

El sistema de medida de la actividad de las enzimas más usado es el de Unidades Internacionales (UI), equivalente a la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 mmol de sustrato por minuto. Deben ser expresadas las condiciones de pH, temperatura y concentración de sustrato usadas en la determinación. La Unión Internacional de Bioquímica (IUB) recomienda, para expresar la actividad enzimática, el uso de katal (1 kat = 1 mol/s), unidad que tiene equivalencia en el Sistema Internacional (1 U/L = 16,67 nkat/L).

La muestra utilizada para el análisis de enzimas debe ser preferiblemente suero y, si se usa plasma, evitarse el uso de anticoagulantes con agentes quelantes de metales, tales como EDTA, citrato u oxalato, a fin de

evitar la inactivación de las metaloenzimas. La heparina es una buena alternativa. La estabilidad de las enzimas es diferente para cada una, por eso es conveniente separar el suero o plasma lo más rápidamente posible. Hay que evitar congelar y descongelar muchas veces la misma muestra, pues este proceso puede causar la desnaturalización de algunas enzimas. Cuando es necesario analizar una muestra en días diferentes se recomienda dividir en pequeñas alícuotas, descongelando solo lo que será analizado enseguida. En la **Tabla 9.4** se presentan los valores séricos de referencia (U/L) de algunas de las principales enzimas.

Tabla 9.3 Enzimas relevantes en la clínica veterinaria y sus tejidos de localización

Enzima (abreviatura)	Localización
Alanina aminotransferasa (ALT)	Hígado, músculo, riñón
Aldolasa (Ald)	Músculo
Amilasa (Amyl)	Páncreas, glándula salivar
Arginasa (Arg)	Hígado
Aspartato aminotransferasa (AST)	Hígado, músculo, eritrocito
Colinesterasa (ChE)	Sistema nervioso, hígado
Creatina quinasa (CK)	Músculo, cerebro
Fosfatasa ácida (AcP)	Diversos
Fosfatasa alcalina (FA, ALP)	Hígado, hueso, intestino, placenta, riñón
Gama glutamil transferasa (GGT)	Hígado, riñón, glándula mamaria, leche, semen
Glutamato deshidrogenasa (GLDH)	Hígado
Glutatión peroxidasa (GPx)	Eritrocito
Lactato deshidrogenasa (LDH)	Hígado, músculo, eritrocito
Lipasa (LIP)	Páncreas
Ornitina carbamil transferasa (OCT)	Hígado
Piruvato quinasa (PK)	Diversos
Sorbitol deshidrogenasa (SDH)	Hígado
Transcetolasa (TK)	Diversos
Tripsina (TR)	Páncreas

Tabla 9.4 Niveles séricos de referencia (U/L) de algunas enzimas

Enzima	Bovinos	Equinos	Caninos	Ovinos
FA	< 488	143-395	20-156	68-387
ALT	14-38	< 23	21-102	< 30
AST	78-132	226-366	23-66	< 350
ChE	1.270-2.430	450-790	< 270	< 640
Amyl	24-31	75-150	185-700	11-73
Arg	< 30	< 14	< 14	< 14
CK	< 94	< 140	< 125	< 40
GLDH	< 31	< 12	< 3	< 20
GGT	6,1-17,4	4,3-13,4	1,2-6,4	20-52
LDH	692-1.445	162-412	45-233	238-440
SDH	4,3-15,3	1,9-5,8	2,9-8,2	5,8-27,9

Además de los cuidados ya citados con la colecta y almacenamiento de la muestra, el clínico ha de tener cuidado especial con la anamnesis del paciente. Algunos hechos pueden pasar desapercibidos y llevar a una interpretación equivocada de los resultados, como, por ejemplo: (1) la aplicación de una inyección por vía intramuscular puede causar una irritación tecidual en el músculo suficiente para elevar la concentración de CK, AST o LDH en la sangre; (2) la hemólisis puede interferir por la variación en la absorbancia de la muestra así como por la liberación de enzimas presentes en los eritrocitos; (3) la CK puede elevarse debido a una crisis convulsiva en que el animal se debata y traumatice los músculos esqueléticos; (4) el animal puede haber sufrido algún accidente que no fue percibido o relatado por los propietarios, caso en el cual deben buscarse otras evidencias, pues además del traumatismo muscular podría haber ocurrido alguna lesión visceral; (5) verificar la posibilidad de inducción enzimática por uso de drogas; (6) tomar en cuenta factores como caquexia, preñez, edad, dieta y otros que puedan interferir en los resultados; (7) animales y razas con tasas de crecimiento mayores presentan mayor actividad enzimática de AST, ALT y FA.

Aldolasa

Cataliza la hidrólisis de la fructosa-1,6-difosfato en gliceraldehído-3-fosfato + dihidroxiacetona fosfato en la vía de la glucólisis. Tiene importancia en el diagnóstico de lesión muscular (esquelética y cardíaca). También puede estar aumentada en casos de daño hepático, en la hemólisis y después de administrarse cortisol. Su medición es difícil, razón por la cual se prefieren otras enzimas indicadoras de esos problemas (AST, ALT, CK, LDH).

Alanina aminotransferasa

La ALT, anteriormente llamada transaminasa glutámico-pirúvica (TGP) cataliza la transaminación reversible de alanina y 2-cetoglutarato en piruvato y glutamato. Tiene como cofactor el piridoxal fosfato. Se encuentra en gran concentración en el hígado y, con menor grado, en riñón y músculos, teniendo localización citoplasmática. La ALT es un buen indicador de hepatopatías agudas en perros, gatos, conejos, ratas y primates, prioritariamente en enfermedades hepatocelulares, necrosis hepática, obstrucción biliar, intoxicaciones e infecciones parasitarias. Su uso en cerdos, caballos y rumiantes es de poco valor diagnóstico debido a los bajos niveles de la enzima en los tejidos de esas especies. En procesos crónicos su valor está disminuido. También puede estar aumentada en casos severos de daño muscular. Gestación, nutrición inadecuada y falla renal pueden llevar a una actividad de ALT disminuida por deficiencia de piridoxina. Perros y ratas tratados con cefalosporina también pueden presentar disminución de la actividad de esta enzima. Aunque está presente en corazón, riñones, músculos y eritrocitos, la enzima oriunda de estos órganos no es capaz de hacer aumentar la ALT más de tres veces su valor de referencia. El incremento de ALT está relacionado con el número de células presentes, o sea con la extensión y no con la gravedad de la lesión. En realidad una lesión, aunque no cause muerte celular, puede ser suficiente para que ocurra liberación de ALT en la corriente sanguínea. Varias drogas pueden inducir aumento de la actividad de ALT. En pequeños animales son relevantes para el clínico los siguientes principios activos: acetaminofén, barbitúricos, glucocorticoides, cetoconazol, mebendazol, fenobarbital, fenilbutazona, primidona y tetraciclina. Sustancias químicas (fenoles, alquitrán y otros), plantas hepatotóxicas y aflatoxina pueden causar el mismo efecto.

La ALT tiene un pico de liberación en la sangre de cerca de tres o cuatro días después de la lesión, retornando a los valores basales luego de dos semanas aproximadamente. La persistencia de valores elevados por un período mayor puede indicar el establecimiento de una patología crónica como neoplasia o hepatitis. Otras causas posibles de aumento de ALT son *shunts* portosistémicos, lipidosis hepática, pancreatitis aguda (aumento moderado), hepatitis tóxicas o infecciosas (leptospirosis, peritonitis infecciosa felina y otras), hipoxia y fiebre (pequeña variación).

Amilasa

La amilasa es una metaloenzima Ca^{2+}-dependiente que actúa en el intestino hidrolizando polímeros de glucosa (almidón, amilopectina y glucógeno) en los enlaces glucosídicos α-1,4, produciendo maltosa y dextrina límite. Existen, como mínimo, cuatro isoenzimas de amilasa en el plasma de perros y siete en humanos. Hay amilasa en varios tejidos (glándulas salivares, cerebro, pulmón), excepto en el hígado. Su nivel es seis veces mayor en el páncreas y el duodeno que en

otros tejidos. La elevación de amilasa en el plasma es indicativo de pancreatitis en perros, obstrucción intestinal, falla renal, obstrucción urinaria, neoplasias del páncreas, hiperadrenocorticismo, obstrucción de las glándulas salivares y administración de drogas (cortisol, opiáceos). También puede aparecer amilasa en la orina en casos de pancreatitis, lesiones de las glándulas salivares e insuficiencia renal. El perro no posee o tiene pocos niveles de α-amilasa en las glándulas salivares, a diferencia de otras especies.

Gran parte de la amilasa sanguínea es removida del organismo por filtración renal y eliminada en la orina; por tanto, una de las probables causas de hiperamilasemia es la disminución de la filtración glomerular. No obstante, si esta causa es eliminada la amilasa tiene alta especificidad para indicar lesión pancreática. En casos más raros puede ocurrir aumento de la amilasa sanguínea por trauma cerebral. Algunas drogas pueden causar pancreatitis, y, por consecuencia, hiperamilasemia. No obstante, no fueron encontrados relatos de inducción de la producción enzimática debido al uso de drogas. Varios tejidos, como intestino, riñones y útero presentan actividad de amilasa, por eso algunos investigadores prefieren considerar que el diagnóstico de pancreatitis en perros sea dado apenas el valor de amilasa sea tres-cuatro veces mayor que los valores de referencia.

Arginasa

Esta enzima presenta aumento de actividad después de una injuria aguda del hígado, retornando a los valores basales más rápido que ALT y AST. En hepatitis necróticas crónicas puede mantener niveles elevados, con mal pronóstico para el animal. La arginasa ya fue demostrada en varias especies, pero puede tener valor diagnóstico en equinos, bovinos, ovinos, caprinos y perros. Actualmente no es usada en la rutina laboratorial por falta de kit comercial disponible.

Aspartato aminotransferasa

La AST, antes llamada transaminasa glutámica-oxalacética (GOT) cataliza la transaminación reversible de aspartato y 2-cetoglutarato en oxalacetato y glutamato. Tiene como cofactor el piridoxal fosfato. Existe en muchos tejidos como dos isoformas, en el citosol y en la mitocondria, siendo más abundante en el hígado, los eritrocitos y los músculos esquelético y cardiaco. Su uso es como indicador de daños en esos tejidos. Aumentos de AST son observados en hepatitis infecciosa y tóxica, obstrucción biliar e hígado graso. Su nivel también está aumentado cuando ocurre hemólisis, deficiencia de selenio/vitamina E y en el ejercicio físico intenso. En lesiones musculares conviene observar además la actividad de creatina quinasa (CK). La AST es usada para evaluar condicionamiento físico en animales atletas. También, en porcinos, puede ser indicador de la capacidad para soportar estrés por transporte (test de halotano). En rumiantes la AST es buen indicador del funcionamiento hepático. Así, sus niveles sanguíneos son utilizados en vacas en el preparto para prevenir enfermedades metabólicas durante el posparto, especialmente en vacas de alta producción lechera. Vacas con altos valores de AST antes del parto tienen más tendencia a sufrir problemas de infertilidad, paresia de parto y retención de placenta, que vacas con bajos valores. Valores altos de AST y bajos de colesterol y de albúmina revelan, con razonable seguridad, trastornos de la función hepática. En aves y otros animales la AST puede indicar toxicidad por ionóforos usados como drogas anticoccidiales. La AST puede estar elevada en la intoxicación crónica por cobre en ovinos. Plantas hepatotóxicas que causen necrosis hepática, como *Cestrum parqui* y *Xanthium cavalinesii*, son causas posibles de aumento de AST. *Senna ocidentalis* y otras plantas que causan extensa necrosis muscular pueden tener el mismo efecto. La deficiencia de vitamina E y selenio puede causar necrosis segmentar de los músculos esqueléticos (enfermedad del músculo blanco), incrementando la actividad de AST en el plasma. En esos casos puede ser interesante evaluar de manera conjunta la CK, que es más específica para lesión muscular, y la glutatión peroxidasa al evaluar la carencia de selenio.

La AST puede ser usada para evaluar lesión hepática en pequeños animales de la misma forma que la ALT, aunque con especificidad mucho menor. En la evaluación de lesión muscular se producen aumentos menores de AST que de CK, pero que se extienden por un período de tiempo mayor. La AST, por ser una enzima mitocondrial y citosólica, necesita una lesión mayor para ser liberada en la corriente sanguínea. Por otro lado, CK y LDH, por ser citosólicas y de tamaño pequeño, consiguen atravesar la membrana celular, aunque no exista un daño tecidual muy grande. En realidad, un simple aumento de permeabilidad de la membrana es

suficiente para que ocurra escape de la enzima. Lesiones en el músculo cardíaco también son demostradas por el aumento de AST. Cardiomiopatías diversas pueden causar este efecto, así como endocarditis bacterianas, dirofilariasis, trombosis aórtica e infarto del miocardio. Cuando hay congestión hepática por problema cardíaco la enzima probablemente estará elevada debido al hígado congestionado. El aumento de AST sérica puede ocurrir en patologías de localización en el sistema nervioso central; cuando eso ocurre, sugiere una gran lesión del parénquima, con mal pronóstico.

Colinesterasa

Existen dos enzimas conocidas por este nombre, la acetilcolinesterasa (AChE) o colinesterasa verdadera, y la butirilcolinesterasa (ButChE), o pseudocolinesterasa. En el plasma se encuentran mayores niveles de la pseudocolinesterasa (butiril-colinesterasa) que de ChE verdadera (acetilcolinesterasa), pero los niveles de ambas son paralelos e indicativos de lo mismo, teniendo los mismos inhibidores y activadores. La ChE es una enzima integrante de la unión mioneural en la materia gris del cerebro que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina en colina + acetato. Entre los más importantes inhibidores de esta enzima están los organofosforados, cuyo grupo fosforilo se une irreversiblemente a la ChE, permitiendo la acción continua de la acetilcolina y causando temblores y convulsiones. El significado clínico de la ChE es cuando se observan niveles menores de lo normal, por ejemplo, en la intoxicación con organofosforados o en lesión hepática. Niveles bajos de ChE también son observados en animales anémicos o mal alimentados. Aumentos de la ChE son vistos en lesiones cerebrales (abscesos) o en hiperlipoproteinemia. La intoxicación por organofosforados causa una inhibición relativamente estable de la enzima, mientras que la causada por carbamatos es muy lábil. La ChE sirve para hacer el diagnóstico diferencial entre las sustancias tóxicas, ya que no hay una relación muy grande con la gravedad de los signos clínicos. La evaluación de la actividad de la acetilcolinesterasa varía mucho con el tiempo y la cantidad del producto ingerido. Como la AChE se encuentra en cantidades muy pequeñas en el plasma, normalmente se evalúa la actividad enzimática de la ButChE como indicador de la actividad enzimática de la AChE en la unión mioneural.

Creatina quinasa

La creatina quinasa (CK), también conocida como creatina fosfoquinasa (CPK), existe en la forma de dímeros, cuyas subunidades pesan 40 kD. Las subunidades corresponden a formas M (muscular) o B (cerebral) y hay tres isoenzimas: MM, MB y BB. En medicina veterinaria la determinación de las isoenzimas de CK aún no tiene utilidad práctica, aunque sea común en medicina humana. La principal actividad de la CK está en el tejido muscular (esquelético y cardiaco), tiene como función fosforilar de forma reversible la creatina a expensas del ATP, como una forma adicional de conservar la energía en enlaces fosfatados. Además del tejido muscular la CK puede estar localizada, en menor cantidad, en riñón, cerebro, diafragma, tracto gastrointestinal, útero y vejiga. La CK es ampliamente usada para diagnosticar trastornos musculares. La enzima es citosólica o asociada a las estructuras de las miofibrillas. Requiere Mg^{2+} como cofactor y, por tanto, su actividad puede estar inhibida en presencia de compuestos quelantes (EDTA, citrato, oxalato). Su nivel está aumentado en el infarto cardiaco y en daños musculares, como isquemia muscular por decúbito prolongado, convulsiones, temblores, traumas, exceso de ejercicio, necrosis muscular, cirugías, inyecciones intramusculares, choque y miopatías nutricionales que presenten deficiencia de vitamina E y selenio. En problemas musculares es conveniente medir además AST. La CK aparece elevada antes de la AST y también desaparece primero. Así, el perfil de esas enzimas puede indicar el estadio del problema. CK aumentada con baja AST indica lesión reciente y niveles persistentemente altos de las dos señalan lesión continuada, mientras que niveles bajos de CK y altos de AST muestran proceso de recuperación.

Perros con leptospirosis presentan la actividad sérica de la CK aumentada, lo que sugiere una extensa degeneración muscular que explica el dolor observado en la clínica veterinaria. Incremento de CK ocurre en bovinos transportados durante largos períodos. Este aumento ocurre por el esfuerzo físico a que son sometidos los animales. El esfuerzo del parto también es un factor de aumento de CK, así como el ejercicio en caballos atletas. El uso de la isoenzima CK-MB no es un indicador confiable de lesión cardiaca en perros, diferente de lo que ocurre con humanos. Eso se da porque la vida media de la CK-MB canina es muy corta y, de esa forma, raramente la isoenzima puede ser evaluada a tiempo.

Fosfatasa ácida

Enzima de la familia de las fosfatasas, que hidrolizan ésteres del ácido fosfórico. La AcP desarrolla su actividad óptima a pH menor de 7,0. Tiene localización intra- y extralisosómica, actúa principalmente en próstata, hígado, bazo, leche, células sanguíneas y semen. En humanos la enzima tiene su actividad sérica aumentada en enfermedades prostáticas (hipertrofia, prostatitis y carcinoma), además de algunas enfermedades óseas y hematológicas. En medicina veterinaria aún no existen resultados concluyentes respecto de la relación entre enfermedades prostáticas y actividad sérica de AcP.

Fosfatasa alcalina

Fue la primera enzima utilizada en la clínica por King y Armstrong en 1927. La FA cataliza la hidrólisis de ésteres de ácido fosfórico en condiciones alcalinas y tiene un pH óptimo de actividad *in vitro* de 10. Como ninguna célula posee ese pH, se cree que el pH intracelular ejerce un importante control sobre la actividad de esta enzima. Existen varias isoenzimas de FA en prácticamente todos los tejidos, estando localizada en la membrana celular. Tiene mayor presencia en las células del epitelio intestinal, hueso, hígado, túbulos renales y placenta. Todas las isoenzimas de FA son dímeros cuyas cadenas pesan de 40 a 70 kD. Son metaloenzimas que contienen Zn^{2+} y tienen como cofactor el Mg^{2+}. Existe una isoenzima inducida por corticoides en perros. La concentración sérica de FA es dos a tres veces mayor en animales jóvenes que en adultos. En gestantes el aumento puede ser de 300 % del valor de referencia debido a su presencia en la placenta.

La isoforma hepática de la FA es la que predomina en el plasma, con mayor importancia en enfermedad hepatobiliar. Así, en la colestasis aumenta la concentración de FA, de forma que entre mayor sea la actividad de la FA, mayor el grado de obstrucción biliar. En daños del parénquima hepático el aumento de FA es de bajo a moderado. Los felinos poseen menor cantidad hepatocelular de FA y es rápidamente eliminada por el riñón. Además, en esta especie, no toda hepatopatía significativa causa aumento significativo de la enzima. En perros la hepatopatía, que causa aumento de FA, cursa con colestasis. La obstrucción biliar extrahepática, así como la inducción por corticoides, puede aumentarla en hasta diez veces. Necrosis hepatocelular por lo general cursa con aumento transitorio de FA. La isoforma renal no está presente en el plasma. Cuando hay daño renal la FA aparece en la orina junto con la enzima GGT.

La FA es de poca importancia en enfermedades hepáticas en caballos y rumiantes, a causa de los amplios intervalos de referencia en estas especies. También puede estar aumentada en casos de osteomalacia, hiperparatiroidismo, tumor óseo, cicatrización de fracturas, deficiencia de vitamina D, raquitismo, hiperadrenocorticismo, gestación y retención de placenta. Como la FA está presente en la leche cruda sirve de marcador en la pasteurización y la inactivación por calor. La isoenzima de FA inducida por corticoides puede estar presente en perros con hiperadrenocorticismo, en tratamiento, o secundario a enfermedades prolongadas por el efecto del estrés. Además de los corticoides, otras drogas inducen aumento de FA, entre las cuales se citan barbitúricos, cefalosporinas, fenobarbital, fenotiazinas, fenilbutazona, tetraciclinas, tiabendazol y halotano. FA de origen óseo puede estar aumentada en animales jóvenes, en consolidación de fracturas, hiperparatiroidismo, osteosarcoma, osteomalacia, o en deficiencia de vitamina D. Los animales castrados presentan mayor actividad de la enzima que los enteros.

Gama glutamil transferasa

Esta enzima también es conocida como gama glutamil transpeptidasa. La GGT cataliza la transferencia de grupos gama-carboxilo del glutamato a un péptido, generalmente el dipéptido Gly-Gly. Se encuentra como enzima asociada a las membranas, pero también está en el citosol, sobre todo en los epitelios de los ductos biliares y renales, aunque pueda ser encontrada en el páncreas y el intestino delgado. Solo la GGT de origen hepática es normalmente encontrada en el plasma, pues la de origen renal es excretada en la orina. La GGT urinaria proviene de la GGT renal, siendo indicativa de daño renal. Su peso molecular varía de 90 a 350 kD, dependiendo de la especie. La función de la GGT no está muy bien esclarecida, pero se cree que está relacionada con el metabolismo del glutatión. La GGT del plasma es de origen hepático, indicativa de colestasis y proliferación de ductos biliares en todas las especies, aumentando también en la cirrosis y en el colangiocarcinoma. En felinos, pero no en perros,

puede ser utilizada en lugar de la FA, con mayor sensibilidad y especificidad para el hígado, por eso es más utilizada en gatos que en perros. En caninos puede ser inducida por el tratamiento con prednisolona, sin haber colestasis. En cachorros caninos la GGT puede alcanzar valores de hasta veinticinco veces el valor para perros adultos.

El nivel de GGT es muy bajo en perros y gatos, comparado con los niveles de los rumiantes. Los niveles de esta enzima pueden estar aumentados, también, en neonatos después del consumo de calostro, hecho que puede servir de marcador de la ingestión de calostro, principalmente en terneros recién nacidos, aunque con menor eficiencia que la inmunoglobulina G. Los niveles de GGT comienzan a disminuir en el suero y a los veintiún días se estabilizan. En bovinos se relata elevación de la actividad de GGT en vacas lecheras con lipidosis hepática y en animales infestados con *Fasciola hepatica*, en los cuales los niveles de GGT están aumentados cerca de seis semanas después de la infección.

Glutamato deshidrogenasa

La glutamato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial, encontrada principalmente en el hígado y el riñón y, menos extendida, en el músculo cardiaco y otros tejidos. Es considerada una enzima hepatoespecífica. En rumiantes, sobre todo, esta enzima es un importante indicador de necrosis hepática u obstrucción del ducto biliar. Cuanto mayor sea su actividad plasmática, mayor es el daño hepático. Durante procesos inflamatorios, como hepatitis o cirrosis, esta enzima, comparada con ALT, tiene un pequeño aumento en su actividad plasmática debido a su localización mitocondrial. Pueden ser observados grandes aumentos de su actividad en enfermedades hepáticas causadas por agentes hepatotóxicos.

Glutatión peroxidasa

Es una enzima intracelular presente en los eritrocitos, que contiene cuatro átomos de selenio por molécula. La GPx representa más de 75 % del selenio sanguíneo. El hecho de existir buena correlación entre la actividad enzimática de GPx en los eritrocitos y la concentración de selenio hace que esta enzima sea empleada para evaluar la deficiencia de dicho mineral. Como la enzima es intracelular, normalmente es medida como unidades por gramos de hemoglobina (U/g Hb). La deficiencia de selenio puede estar relacionada a mayor incidencia de mastitis, degeneración testicular, inmunosupresión, aborto, retención de placenta, miopatía cardiaca, enfermedad del músculo blanco, entre otras. La GPx puede usarse para evaluar la mejor forma de suplementar el mineral y su respuesta frente a enfermedades, así como su correlación con ganancia de peso. Animales deficientes en selenio, cuando son sometidos a esfuerzos físicos intensos, tienen mayor lesión tecidual y, en consecuencia, un nivel más elevado de otras enzimas como AST, CK y LDH.

Lactato deshidrogenasa

La LDH cataliza la oxidación reversible del lactato para piruvato con el cofactor NAD^+. Existen, como mínimo, cinco isoenzimas, compuestas por tetrámeros, cuyos protómeros son de dos tipos (H y M), con pesos moleculares aproximados de 35 kD. La concentración de LDH en los eritrocitos es ciento cincuenta veces mayor que en el plasma, de ahí que una hemólisis leve es detectada por aumento en los niveles de esta enzima. El análisis electroforético de las isoenzimas revela daños tisulares específicos. Existen cinco isoenzimas conocidas de LDH que no son por lo común analizadas en los laboratorios veterinarios. Aisladamente la enzima no es específica para ningún órgano. Lesiones musculares de etiologías variadas pueden estar relacionadas al aumento de LDH. Deficiencia de vitamina E o selenio y mioglobinuria son causas del aumento de LDH. En caballos de salto la LDH se incrementa inmediatamente luego del ejercicio, manteniéndose elevada después de veinticuatro horas, diferente de la CK, que tiene un pico después del ejercicio, pero vuelve a los valores basales un día después. Por presentarse como buen indicador de lesión muscular la LDH se usa en conjunto con CK y AST para monitorear la intensidad del ejercicio en caballos.

La LDH puede ser utilizada para evaluar cardiomiopatías diversas (isquemia, endocarditis bacteriana, dirofilariasis, trombosis aórtica e infarto del miocardio). Por lo general la LDH aumenta menos rápido que la CK, pero también mantiene los valores elevados más tiempo. Luego de infarto agudo de miocardio en humanos la LDH alcanza valores por encima de la referencia después de dieciséis horas,

llegando a valores máximos en cuarenta horas y manteniendo la actividad elevada por hasta ocho días. En medicina humana es común analizar la isoenzima LDH_1 y comparar con los valores de otras isoenzimas a fin de evaluar el infarto de miocardio. LDH_1, que normalmente no pasa de 40 % de la actividad total, después del infarto puede alcanzar la proporción de 50 % a 60 % de la actividad total. Además, suele estar en menor cantidad que la LDH_2, situación que se invierte después del infarto. La LDH también puede ser utilizada en casos de meningitis bacteriana. En esos casos ocurre incremento de la isoenzima LDH_5 y un pequeño aumento de la LDH_4.

Lipasa

La lipasa cataliza la hidrólisis de triglicéridos liberando dos ácidos grasos y un monoglicérido. La lipasa pancreática es la más abundante de todas las lipasas en el plasma. Su presencia elevada en el suero es indicativo de pancreatitis, especialmente en perros, aunque su uso ha sido sustituido por la amilasa debido a los costos del análisis. Los niveles de colipasa (cofactor de la lipasa pancreática) son importantes en el análisis. Como la colipasa es excretada en el riñón y la lipasa no, un daño renal puede producir aumento en la actividad de la lipasa sérica.

Sorbitol deshidrogenasa

La sorbitol deshidrogenasa (SDH) cataliza la oxidación reversible de sorbitol a fructosa, teniendo como cofactor el NAD^+. Su peso molecular es de 95 kD y aparece de modo exclusivo en el citosol de los hepatocitos. Su incremento en plasma revela daño hepático. Es muy inestable en el suero equino, donde su actividad solo dura uno-dos días después de ser obtenida la muestra. Es más usada en rumiantes y caballos que en perros y gatos.

Tripsina

La tripsina es sintetizada por las células acinares del páncreas en la forma de una pro-enzima inactivada denominada tripsinógeno, la cual es secretada en el duodeno a través del jugo pancreático. En el tracto gastrointestinal el tripsinógeno se convierte, por acción de la enteroquinasa, en tripsina, enzima que participa en la proteólisis de proteínas y péptidos produciendo aminoácidos. En el plasma factores antitripsina están presentes para proteger las proteínas plasmáticas de la hidrólisis por la tripsina y su entrada en la circulación vascular. Puede hallarse en la forma de tripsina, tripsinógeno o del complejo antitripsina. Un tipo de inmunoensayo específico, llamado TLI (inmunorreactivo semejante a tripsina), es capaz de detectar las tres formas de tripsina. La técnica es más utilizada en perros, midiéndolo en el plasma con ayuno de doce horas. Una concentración plasmática baja de tripsinógeno (menor que 2,3 mg/L) está relacionada con insuficiencia pancreática exocrina. Niveles elevados de tripsinógeno (mayores que 30 mg/L) son observados en casos de pancreatitis aguda.

Otras enzimas

En medicina veterinaria pueden ser utilizadas otras enzimas; no obstante, por motivo de costos elevados, dificultad para realizar los test o la baja especificidad que ofrecen, son sustituidas por otras enzimas. Es el caso de la aldolasa, enzima que tiene buena especificidad por lesiones en hígado y músculos esquelético y cardiaco. Su actividad sérica puede estar aumentada en hepatitis virales, tumores hepáticos, infarto del miocardio y lesiones de los músculos esqueléticos. La dificultad al realizar el ensayo de determinación de la aldolasa hace que sea reemplazada por otros test más fáciles y rápidos, como AST, ALT, CK y LDH.

La piruvato quinasa (PK) también se utiliza para evaluar lesiones musculares. La enzima puede auxiliar en la identificación de cerdos homocigotos para hipertermia maligna. La transcetolasa es una enzima intraeritrocitaria que puede estar aumentada en casos de necrosis cerebrocortical o en la acidosis láctica en los bovinos.

9.5 Perfiles bioquímicos específicos

En la evaluación de sistemas específicos el perfil metabólico ofrece una herramienta de diagnóstico importante sobre el funcionamiento de los tejidos hepático (**Cuadro 9.1**), renal (**Cuadro 9.2**), pancreático (**Cuadro 9.3**), óseo (**Cuadro 9.4**) y muscular (**Cuadro 9.5**). Otras aplicaciones del perfil bioquímico sanguíneo también son consideradas.

Cuadro 9.1 Metabolitos sanguíneos indicadores del funcionamiento hepático

ALT	Enzima específica para diagnóstico de lesión hepática en pequeños animales.
AST	Aumento indica lesión hepática aguda en diversas especies; no es muy específica, pues puede indicar también problemas musculares, entre otros; es más usada en grandes animales.
FA	Enzima poco específica; su actividad está aumentada sobre todo en casos de obstrucción biliar.
GGT	Su aumento es indicativo de tumor hepático y colestasis.
SDH	Enzima específica para el diagnóstico de lesión hepática en equinos y rumiantes.
Bilirrubina total	Sus niveles están aumentados cuando ocurre reducción de la función hepatocelular u obstrucción del tracto biliar.
Amonio	Sus niveles están aumentados debido a la incapacidad del hígado de transformarla en urea, en caso de insuficiencia hepática grave y en desvíos portosistémicos.
Urea	En caso de insuficiencia hepática sus niveles están disminuidos debido a la incapacidad de síntesis a partir de amonio.
Albúmina	El hígado lesionado no consigue sintetizar la albúmina necesaria para mantener el equilibrio osmótico del plasma, ocurriendo hipoalbuminemia, que puede llevar a edema o ascitis.
Glucosa	Con lesión del hígado habrá disminución de la glucemia debido a la reducción de las reservas de glucógeno y la incapacidad del hígado de efectuar la gluconeogénesis adecuadamente.
Colesterol	Con frecuencia se encuentra aumentado en enfermedades hepáticas, siendo un hallazgo accidental no específico. No obstante, es común observar disminución en insuficiencia hepática, debido a la incapacidad de síntesis por parte del hígado.
Ácidos biliares	En lesión del hígado puede ocurrir aumento de sus niveles a consecuencia de la menor extracción de ácidos biliares de la sangre por las células hepáticas. También puede haber aumento en casos de obstrucción biliar.

Cuadro 9.2 Metabolitos sanguíneos indicadores del funcionamiento renal

Albúmina	Es la principal fracción proteica que se pierde en los riñones en casos de glomerulonefritis y enfermedades glomerulares primarias, llevando a hipoalbuminemia.
Urea	Es excretada casi totalmente por el riñón; altos niveles pueden estar relacionados con filtración renal insuficiente.
Creatinina	Metabolito más específico en diagnóstico de función renal alterada. Se excreta por los riñones y, por eso, altos niveles indican deficiente función renal.

Relación albúmina/globulinas	En enfermedades glomerulares ocurre disminución de la relación A/G por pérdida de albúmina en los riñones.
Calcio	En hiperparatiroidismo secundario de origen renal puede ocurrir hipocalcemia.
Potasio	Altos niveles son encontrados en problemas de la función glomerular; niveles bajos están asociados con problemas en los túbulos renales o en la nefritis intersticial crónica.
Fósforo	Sus niveles séricos están aumentados cuando hay insuficiente filtración renal, lo que puede llevar a hiperparatiroidismo secundario de origen renal.
Fibrinógeno	Su aumento está relacionado con amiloidosis renal.
FA, GGT	La isoforma renal de la FA no está presente en el plasma; cuando hay daño renal la FA aparece en la orina junto con la GGT.

Cuadro 9.3 Metabolitos sanguíneos indicadores del funcionamiento pancreático

Amilasa	Niveles extremadamente elevados se encuentran en el estadio inicial de una pancreatitis aguda; niveles bajos están relacionados con insuficiencia pancreática exocrina.
Lipasa	Es considerada la mejor enzima para el diagnóstico de pancreatitis debido a ser menos afectada por otros factores que la amilasa y mantenerse elevada durante un largo período.
Tripsina	Sus niveles aumentan en la disfunción del páncreas.
Calcio	La hipocalcemia es hallazgo frecuente en la pancreatitis aguda a causa del aumento de ácidos grasos, por acción de la lipasa, que se combinan con el calcio, dejándolo insoluble en el plasma.
Colesterol	Sus niveles están aumentados en la disfunción pancreática debido a la elevación de las lipoproteínas de alta y baja densidad en el plasma.
Triglicéridos	Pueden aumentar en la insuficiencia pancreática por la poca liberación de lipasa en el páncreas.
Glucosa	Puede estar con niveles aumentados en la pancreatitis por aumento de la secreción de glucagón.
Albúmina	Niveles disminuidos en casos avanzados de insuficiencia pancreática debido a fallas en la absorción de aminoácidos.

Cuadro 9.4 Metabolitos sanguíneos indicadores del funcionamiento óseo

FA	El aumento de la actividad osteoblástica causa elevación en la actividad plasmática de esta enzima en perros y gatos. Enfermedades como hiperparatiroidismo y osteosarcoma, así como proceso de cicatrización ósea y de crecimiento, presentan mayor actividad osteoblástica.
Calcio	La hipercalcemia es común en casos de osteoporosis, tumores óseos osteolíticos, hiperparatiroidismo primario y pseudohiperparatiroidismo.
Fósforo	Está disminuido en casos de hiperparatireoidismo primario y pseudohiperparatiroidismo, y aumentado en casos de tumores óseos osteolíticos, hipotiroidismo e hiperparatiroidismo secundario.
Relación Ca/P	Siempre que la relación esté alterada (normal es 2:1), hay indicio de predisposición a patologías óseas.

Cuadro 9.5 Metabolitos sanguíneos indicadores del funcionamiento muscular

CK	Es la enzima más específica para diagnóstico de daño muscular. Niveles extremadamente altos se observan luego de una lesión muscular.
AST	Aumenta concomitantemente con CK cuando ocurren daños musculares.
LDH	Enzima menos específica que permanece con niveles elevados varios días después de lesión muscular.
Mioglobina	Daño muscular puede ocasionar mioglobinemia. Cuando la concentración excede a 20 mg/dL, la mioglobina comienza a aparecer en la orina (mioglobinuria).
Creatinina	Puede estar aumentada en trastornos que aumenten el catabolismo muscular por la liberación de creatina, compuesto precursor de creatinina.
Piruvato quinase	Enzima que puede estar moderadamente aumentada cuando ocurre daño muscular.
Calcio	La hipocalcemia puede estar asociada con tetania en perras, en el período de lactación, o con parálisis muscular después del parto en vacas lecheras.
Fósforo	En períodos prolongados de parálisis muscular puede ocurrir hipofosfatemia.
Magnesio	La hipomagnesemia está asociada a tetania hipocalcémica en perras.
Selenio, GPx	La deficiencia crónica de Se está asociada a distrofia muscular. El diagnóstico puede ser hecho mediante medición de la enzima GPx en los eritrocitos.
Potasio	Puede ocurrir hipercalemia en la degeneración o necrosis muscular por liberación de potasio intracelular. Hipocalemia ocurre asociada a períodos prolongados de parálisis muscular.

Perfil bioquímico en el ejercicio

En el ejercicio sufre el organismo una serie de respuestas metabólicas:

(1) Aumento de la capacidad de oxigenación de la sangre mediante aumento de la frecuencia respiratoria y la contracción esplénica, que lleva a incrementar el número de eritrocitos en la sangre (aumento de hematocrito y hemoglobina).

(2) Mayor producción de ácido láctico, cuando el metabolismo pasa de aeróbico a anaeróbico; el ácido láctico, a su vez, puede afectar la permeabilidad de las membranas celulares, especialmente de las células musculares, y algunas enzimas pueden escapar para la sangre, en particular creatina quinasa.

(3) Deshidratación, debido a la pérdida de agua por el sudor y la respiración.

(4) Cambios en el equilibrio ácido-básico, proceso en el cual intervienen dos factores: hiperventilación que causa disminución de la concentración de CO_2 con tendencia a la alcalosis y aumento de ácido láctico con tendencia a la acidosis. Los cambios en el equilibrio van a depender de la duración e intensidad del ejercicio y la adaptación del animal. Un animal mejor entrenado tiene menor aumento de ácido láctico y mayor capacidad de oxigenación.

El uso del perfil metabólico para evaluar la adaptación al ejercicio debe incluir la estandarización de valores referenciales para la raza, el sexo y la edad de los animales. Los mejores indicadores de adaptación al ejercicio son el ácido láctico y las enzimas CK, AST y LDH. En general, animales mejor adaptados tienen menores aumentos de ácido láctico y enzimas, al igual que retorno más rápido a los valores basales después de carreras o ejercicios intensos. En ejercicios de larga duración se acentúa el riesgo de deshidratación, mejor indicada por la concentración de proteínas totales (preferiblemente albúmina) que por el hematocrito, el cual puede aumentar por la contracción esplénica, además de la deshidratación. También en carreras largas puede ocurrir incremento del potasio por daño en las células musculares, disminución del cloro por pérdida en el sudor, aumento de ácidos grasos libres y disminución de la glucosa por gasto energético y aumento del fósforo por defosforilación de compuestos energéticos. Además, como el ejercicio causa mayor peroxidación de las membranas celulares, la demanda de vitamina E/selenio aumenta, generándose metabolitos que pueden limitar el *performance* del ejercicio. El transporte prolongado ocasiona los mismos cambios metabólicos que el ejercicio exagerado.

Perfil bioquímico en el crecimiento

El crecimiento es un proceso multifactorial que presenta una gran cantidad de posibles limitaciones. La multiplicación de las células demanda muchos metabolitos y la limitación de uno de ellos puede disminuir o aun detener el proceso integral de crecimiento. Mediante el uso del perfil metabólico pueden ser detectadas anormalidades metabólicas limitantes, aunque no exista un indicador específico que detecte la posible superioridad de un animal para el crecimiento. El uso del perfil metabólico al evaluar el crecimiento exige tomar en cuenta el manejo y tipo de alimentación. Los animales poseen marcada individualidad para el crecimiento y esa diferencia puede ser debida simplemente al apetito. Si el animal come más, tiene mejor crecimiento. Así, la evaluación de la capacidad para crecer puede ser medida por el consumo de alimento. No obstante, algunos indicadores químicos pueden estar relacionados con el crecimiento; los tejidos en crecimiento demandan proteína y energía adicionales, por consiguiente la deficiencia de esos nutrientes causará fallas en el crecimiento. Existen correlaciones positivas entre la concentración de glucosa sanguínea y la tasa de crecimiento. Los animales que consiguen mantener niveles de glucosa normales, a pesar de limitaciones de energía en la dieta, serían superiores fisiológicamente a aquellos con menor glucemia en las mismas condiciones. La deficiencia de sodio y, eventualmente, la hiponatremia, pueden causar fallas digestivas e indirectamente disminución del apetito. El cobalto y la vitamina B_{12}, relacionados con la producción de eritrocitos, y el hierro, relacionado a la producción de hemoglobina, pueden afectar de modo indirecto el crecimiento cuando ocurren deficiencias de esos minerales/vitaminas, sobre todo en terneros y lechones, pues la anemia está vinculada a bajo crecimiento. El zinc es un elemento cuya deficiencia muestra de manera típica fallas en el crecimiento. El cobre parece no afectar la tasa de crecimiento.

Por ahora no existen indicadores químicos de la sangre que puedan ser utilizados para seleccionar

animales genéticamente superiores en términos de crecimiento, aunque exista alta heredabilidad de las concentraciones de algunos metabolitos, en especial hemoglobina, glucosa y potasio, todos ellos relacionados con la tasa de crecimiento. Los factores que intervienen en el crecimiento son tan múltiples que el resultado supera la heredabilidad de unos pocos metabolitos.

Perfil bioquímico en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades

La hipoglobulinemia en animales neonatos que recibieron poco calostro puede ser detectada mediante perfil metabólico, lo que permite tomar medidas para evitar complicaciones debido al aumento de la susceptibilidad a sufrir infecciones, en particular diarreas por colibacilosis. El estado hipoproteinémico de la madre al final de la gestación es una de las causas del bajo nivel de inmunoglobulinas en el calostro, y eso también puede ser detectado por el perfil metabólico de la madre antes del parto. En los animales neonatos con problemas de bajas defensas se observa, además de hipoglobulinemia, tendencia a la hipoglucemia, principalmente antes de que aparezcan signos clínicos. La deshidratación que ocurre durante un cuadro de diarrea puede ser evaluada por medio del perfil metabólico. Un hematocrito arriba de 55% indica grave compromiso de la vida del animal, urea elevada (mayor que 100 mg/dL) es de mal pronóstico. La hipercalemia y la hiperfosfatemia, debido a la salida de potasio y fósforo de las células damnificadas, pueden revelar la inminencia de un colapso.

Otras deficiencias detectadas a través del perfil metabólico pueden ser tratadas en animales antes de que ocurran signos clínicos. La deficiencia de zinc causa disminución de la competencia inmunológica, lo cual aumenta la probabilidad de infecciones, más que todo en animales jóvenes. En carneros que consumen pastos con menos de 100 ppm de zinc se observan niveles sanguíneos de zinc por debajo del límite inferior (6 µmol/L) que pueden causar predisposición a infecciones y muerte. Deficiencias causadoras de enfermedades graves en animales jóvenes y que pueden ser detectadas con el perfil metabólico incluyen también: deficiencia de selenio/vitamina E por nivel de glutatión peroxidasa (GPx), deficiencias de fósforo y de sodio y, por medición de tiroxina, deficiencias de yodo.

Con relación a la cetosis de las vacas lecheras, la pregunta es: ¿puede el perfil metabólico ser utilizado para prever el problema? Los eventos metabólicos más importantes en la cetosis se manifiestan en la hipoglucemia y la elevación de los cuerpos cetónicos, tanto en sangre como en leche y orina. El nivel de ácidos grasos libres también se incrementa y el hígado puede sufrir alteraciones lipídicas. Una información importante para evaluar la evolución de la enfermedad son los niveles de las enzimas hepatoespecíficas, así como el nivel de albúmina que decae con la disminución de la función hepática. Por otra parte, antes de que aparezcan signos clínicos, el nivel de los cuerpos cetónicos, entre ellos el más importante, el BHB, aumentan. Los signos clínicos pueden ser observados cuando el BHB supera 2,0 mmol/L. Otro cuerpo cetónico, el acetoacetato, también se considera buen indicador. Concentraciones de hasta 0,35 mmoles/L se consideran normales, niveles entre 0,36 y 1,05 mmoles/L son compatibles con cetosis subclínica, y por encima de 1,05 mmoles/L indican enfermedad clínica. La cetosis clínica puede ser entonces previsible combinando los valores de cuerpos cetónicos y glucosa. Es posible, asimismo, acompañar la evolución del trastorno a través de los niveles de cuerpos cetónicos en leche u orina. Se considera que los niveles de cuerpos cetónicos en leche corresponden a 35%-50% de los valores en sangre.

En el caso de la fiebre de leche, por ser un trastorno de presentación aguda no existe test sanguíneo que pueda preverlo; no obstante, mediante el perfil metabólico pueden ser detectados factores predisponentes de la enfermedad y, una vez sufrida esta, podría ser evaluado el pronóstico. Entre los factores predisponentes a la fiebre de leche los desequilibrios minerales pueden ser evaluados con el perfil metabólico, específicamente la situación del magnesio y la relación Ca:P. La deficiencia de magnesio es la causa predisponente más importante para la fiebre de leche. La mayoría de las veces la hipomagnesemia no se presenta clínicamente, sino de forma crónica subclínica, atacando a las vacas después del parto. La incidencia de hipomagnesemia aumenta en las épocas en que el pasto es fertilizado con potasio, pues este mineral inhibe la disponibilidad de magnesio en el animal. También en épocas de producción de pasto o forraje de mala calidad, como en el invierno, los niveles de magnesio caen de forma peligrosa. Por medio del perfil metabólico se puede acompañar el estado magnesémico del rebaño a fin

de mantener niveles de seguridad de 1,0 mmol/L y suplementar cuando sea el caso. El desequilibrio de la relación Ca:P se refiere al aumento de la relación, sea por deficiencia de fósforo, o por exceso de calcio. Una relación Ca:P mayor de 3,8 puede inhibir la secreción de PTH y aumentar la secreción de calcitonina. Así, el efecto sobre el metabolismo de una relación Ca:P alta es la menor movilización de las reservas de calcio y la mayor predisposición a sufrir fiebre de leche. Conociendo el estado mineral a través del perfil metabólico pueden ser tomadas las medidas del caso antes del parto. En las vacas acometidas por fiebre de leche el perfil metabólico puede ayudar en el pronóstico. Sabiendo que el daño muscular es el principal responsable de la falta de recuperación del trastorno y el factor que causa el síndrome de la vaca caída, pueden ser analizados los niveles de las enzimas del músculo, principalmente AST y CK. Altos niveles enzimáticos revelan extenso daño muscular con pocas probabilidades de recuperación. La proporción de recuperación de las vacas con fiebre de leche mediante una única inyección intravenosa de borogluconato de calcio es del orden de 65%; la recuperación de las demás dependerá de la respuesta metabólica y, en especial, del daño muscular. Factores predisponentes a la fiebre de leche, como estasis alimentario, raza, peso, o producción de leche, no pueden ser evaluados con el perfil metabólico.

Otros trastornos minerales que pueden ser detectados con perfil metabólico incluyen la urolitiasis y enfermedades óseas. La formación de cálculos en la orina depende de una combinación de circunstancias que incluyen desequilibrios minerales debidos a la dieta, observables con el perfil metabólico apropiado. En los rumiantes, que poseen una orina normalmente alcalina debido a la presencia de grandes cantidades de bicarbonato de potasio, el aumento de fósforo o magnesio por causa de dietas ricas en cereales provoca baja del pH urinario con precipitación y formación de cálculos. Los machos son propensos a sufrir más debido a tener la uretra más larga, estrecha y tortuosa. El perfil metabólico aparece con hiperfosfatemia e hipermagnesemia, con o sin hipocalcemia. El tratamiento consiste en la adición de carbonato de calcio al alimento para inhibir la absorción de fósforo en el intestino. Entre las enfermedades óseas, la osteoporosis tiene bastante incidencia, primordialmente en vacas de alta producción lechera, debido a la desmineralización del hueso cuando se combinan la salida de altas cantidades de calcio en la leche con deficiencia de calcio en la alimentación por un período relativamente prolongado. El test sanguíneo para diagnosticar el problema puede incluir calcio, fósforo, magnesio y fosfatasa alcalina en el plasma y prolina en la orina. La prolina es un aminoácido abundante en la matriz ósea, que puede estarse excretando en exceso cuando ocurre osteoporosis. Dietas con exceso de fósforo (cereales) pueden causar hiperfosfatemia e hipocalcemia y llevar a la osteoporosis. Los animales más susceptibles a sufrir osteoporosis, fuera de las vacas de alta producción lechera, son las ovejas y los caballos. La osteopetrosis, causada por exceso de consumo de calcio, sobre todo en perros y toros, lleva a la excesiva mineralización de los huesos, causando engrosamiento del hueso y exóstosis. En el perfil sanguíneo no se observa aumento de calcio, pero debido a la secreción de calcitonina en respuesta a los niveles elevados de calcio, lo que puede ser detectado en la sangre es hipocalcemia e hipofosfatemia con baja concentración de fosfatasa alcalina.

Perfil bioquímico en la evaluación de la fertilidad

El problema de la infertilidad es multifactorial, muchas veces con relación al manejo y a la alimentación; sin embargo, el perfil metabólico como herramienta para detectar anormalidades en la química sanguínea puede relacionar problemas metabólicos con infertilidad. Los principales problemas que causan baja fertilidad en los rebaños son fallas en la detección de estro y en la inseminación al momento adecuado. El perfil metabólico tiene poco que ofrecer con relación a esos problemas; no obstante, mediante el análisis de progesterona en la leche es posible saber si el tiempo de inseminación fue correcto y puede diagnosticar de forma precoz la gestación. Muestras en el día de la inseminación y 21-23 días después revelan si la inseminación fue hecha en el día apropiado, cuando habrá bajos niveles de progesterona, o si el animal está gestante a los 21-23 días, cuando habrá altos niveles de progesterona.

Varios metabolitos han sido estudiados respecto de la fertilidad. Entre los más analizados están la glucosa y la albúmina. En cuanto a la glucosa, los resultados son inconsistentes. A veces se relaciona la hipoglucemia con infertilidad y a veces no se encuentra relación.

Bajos niveles de glucosa sanguínea han sido indicados como causa de fertilidad reducida, especialmente en vacas en el posparto. La hipoglucemia también ha sido responsabilizada de causar anestro, fallas en la ovulación y disminución de la tasa de gestación. Se sugiere que existe un nivel de glucosa por debajo del cual la fertilidad es inhibida. De cualquier forma, como en los rumiantes la síntesis de glucosa depende de un adecuado funcionamiento hepático, lo más racional debe ser evaluar el hígado mediante los principales indicadores de su función, junto con la glucosa. En el caso de la albúmina se sabe que fisiológicamente su nivel en la sangre puede disminuir después del parto, debiendo recuperarse de manera gradual durante el posparto. La capacidad de esa recuperación está directamente relacionada con la reactivación ovariana y el potencial de producción lechera en ese período. La fertilidad en la vaca disminuye si la concentración sérica de albúmina está por debajo de 30 g/L. Aquellas vacas que tienden a mantener los niveles de albúmina más estables son propensas a ser más fértiles. De cualquier forma, se vuelve al hígado; la lenta recuperación de los niveles de albúmina después de su baja en el parto puede estar relacionada con problemas en el funcionamiento hepático que disminuyen la síntesis de albúmina y otras proteínas. Por otra parte, vacas con niveles elevados de globulinas por lo general requieren mayor número de servicios por concepción, lo que puede estar relacionado con estados inflamatorios o infecciosos.

Numerosos trabajos mencionan la influencia negativa que una inadecuada nutrición puede causar en la fertilidad. Si el perfil metabólico es capaz de reflejar el estatus nutricional del animal, puede ser usado para diagnosticar o prevenir trastornos reproductivos. El déficit energético, que a veces puede llevar a cetosis, también puede afectar la función hepática debido a la acumulación de cuerpos cetónicos y a la excesiva movilización de lípidos, que causa infiltración grasa en el hígado. Concentraciones elevadas de fósforo, potasio, proteínas totales y urea han sido relacionadas con baja fertilidad en rebaños bovinos. El exceso de proteínas y urea puede causar problemas de sobrevivencia embrionaria, disminuyendo, por tanto, la tasa de concepción. El anestro en vacas ha sido relacionado con niveles inadecuados de fósforo y betacarotenos en la dieta. La deficiencia de algunos oligoelementos, tales como cobre, selenio y cobalto, ha sido relacionada con infertilidad. Asimismo, la disminución de los niveles de calcio, magnesio y sodio ha sido señalada como causa de infertilidad.

Perfil bioquímico en el diagnóstico de problemas nutricionales

Aunque de difícil aplicación, los perfiles metabólicos pueden ser usados para monitorear el estado nutricional en grupos de animales, sobre todo en rumiantes (**Cuadro 9.6**). Bajos valores sanguíneos de proteínas y en especial de urea revelan deficiencia proteica en la dieta, que puede causar disminución del consumo y la producción de leche. Alto nivel de urea puede indicar exceso de consumo de proteínas o deficiencia de sustratos energéticos y ocasionar baja fertilidad. Bajos valores plasmáticos de albúmina, urea y hemoglobina revelan la necesidad de adicionar proteína en la dieta. Valores de sodio plasmático disminuidos indican bajos valores de sal en la ración. Bajos valores de glucosa y altos de cuerpos cetónicos en la sangre señalan deficiencia de energía en la dieta.

9.6 Análisis para monitorear la función renal

Urea y creatinina

La urea es sintetizada en el hígado a partir del amonio derivado del catabolismo proteico. Se excreta vía renal, siendo filtrada en el glomérulo y parcialmente reabsorbida de forma pasiva en los túbulos. La reabsorción de urea en el túbulo está relacionada de forma inversa con el flujo de orina; así, en condiciones de alto flujo cerca del 40 % de la urea se reabsorbe, mientras que en casos de poco flujo de orina (deshidratación y otros problemas pre- o posrenales) se puede reabsorber hasta 70 % de urea. En rumiantes y équidos la urea puede ser excretada por vía gastrointestinal, de forma que en esas especies valores normales o no muy elevados de urea pueden ser hallados en casos de insuficiencia renal. En los rumiantes cobra especial importancia en el metabolismo nitrogenado el reciclaje de urea, que puede ocurrir vía salival para servir de fuente de nitrógeno a las bacterias ruminales. La urea sanguínea puede ser expresada como urea propiamente o como BUN (nitrógeno ureico sanguíneo). Para convertir BUN a urea, en mg/dL, el factor de multiplicación es 2,14.

La creatinina se forma endógenamente a partir de la conversión de creatina, compuesto que almacena

Cuadro 9.6 Metabolitos sanguíneos indicadores del estatus nutricional

Urea	Dieta con alto tenor de proteína causa aumento de urea plasmática debido al aumento del catabolismo proteico. Deficiencia energética en la dieta también aumenta el catabolismo proteico y el nivel de urea plasmática. Dieta con bajo tenor de proteína puede causar disminución de valor de urea.
Proteína total	Deficiencia proteica en la alimentación tiende a causar hipoproteinemia.
Albúmina	Dietas con bajo tenor de proteínas pueden causar hipoalbuminemia debido a la disminución de la síntesis proteica en el hígado.
Triglicéridos	Una refección rica en grasa puede resultar en aumento temporal de los triglicéridos plasmáticos. Ayuno en animales obesos puede causar aumento de los triglicéridos plasmáticos a causa de la movilización de las reservas lipídicas.
Colesterol	Sus niveles aumentan luego de una refección rica en grasa (hiperlipidemia posprandial). Dietas con alto tenor de grasa ocasionan hipercolesterolemia. El ayuno también puede causar aumento de colesterol en el plasma por la movilización de grasas de reserva. Dietas con bajo tenor de grasa causan disminución de colesterol.
Glucosa	Aumenta después de las refecciones. La hipoglucemia solo es problema en animales recién nacidos (principalmente lechones), pues los adultos consiguen mantener el nivel de glucosa constante aun durante períodos largos de inanición.
Beta-hidroxibutirato	Sus niveles pueden aumentar en rumiantes como consecuencia de severa deficiencia energética debida a la movilización de triglicéridos de reserva y conversión de los ácidos grasos en cuerpos cetónicos. En situaciones críticas, como inicio de lactación y alta producción, puede ocurrir cetoacidosis.
Sodio	Alto tenor de proteína en la dieta puede causar aumento de sodio plasmático a causa de la diuresis inducida por altos niveles de urea.
Potasio	Animales cardiacos a los cuales se prescribe una dieta con bajo tenor de sodio pueden presentar hipercalemia debido a un desequilibrio en el intercambio iónico en los túbulos renales. Animales con anorexia que son mantenidos con fluidoterapia sin suplementación de potasio presentan hipocalemia, pues la excreción de potasio continúa normalmente.
Calcio	El aumento relativo de albúmina (deshidratación), principal proteína transportadora de calcio en el plasma, o la suplementación con exceso de calcio, provocan hipercalcemia. La hipoalbuminemia, o una dieta deficiente en calcio, son responsables de bajos niveles de calcio plasmático. La hipocalcemia puede ocurrir en desbalances Ca/P en la alimentación, más que todo en animales jóvenes.
Fósforo	Dietas compuestas exclusivamente a base de carne y vísceras pueden causar hiperfosfatemia debido a desbalance en la relación Ca/P.

energía en el músculo en forma de fosfocreatina. La síntesis de creatinina ocurre de forma constante, influenciada sobre todo por la masa muscular. Entrenamientos prolongados, enfermedades musculares o adelgazamiento pronunciado pueden afectar los valores de creatinina. A diferencia de la urea, el valor de creatinina no es afectado por el aumento del catabolismo de las proteínas tisulares o por la dieta. La creatinina es filtrada por el glomérulo y no se reabsorbe en el túbulo, por lo cual se considera mejor marcador de la tasa de filtración glomerular que la urea.

El aumento de compuestos nitrogenados (urea y creatinina) en la sangre se llama azotemia, y puede ser prerrenal, renal o posrenal. La azotemia prerrenal puede ser ocasionada por las siguientes causas:

(a) Aumento del catabolismo proteico debido a hemorragia gastrointestinal que provoca absorción de proteínas de la sangre, dieta alta en proteínas (causan aumentos poco significativos de urea en animales sanos, pero pueden provocar gran aumento en animales con enfermedad renal oculta), infección y fiebre, ejercicio prolongado, uso de glucocorticoides, e hipertiroidismo.

(b) Disminución de la perfusión renal, donde hay filtración glomerular reducida, aunque aumento de la reabsorción de urea, y puede ser debida a hipovolemia por deshidratación (vómito, diarrea, procesos que cursan con poliuria, como diabetes mellitus o hipoadrenocorticismo), o por enfermedad cardiovascular. Generalmente, en las causas de azotemia prerrenal aumenta menos la creatinina y más la urea.

Aumentos por causas renales y posrenales son producidos en casos de insuficiencia renal aguda o crónica, cuando cerca del 75 % de la tasa de filtración glomerular está comprometida. Pueden asociarse con baja densidad de la orina, aunque en gatos puede encontrarse densidad normal. La razón para que no haya azotemia con alteraciones iniciales de los nefrones es porque en cualquier daño renal con pérdida de nefrones funcionales ocurre hipertrofia compensatoria y aumento de la función del resto de nefrones no afectados. Cuando se llega a 75 % de los nefrones afectados, pequeños daños adicionales y baja de la filtración glomerular causan aumentos exponenciales de urea y creatinina. Por tanto, la principal limitación de la medición de urea y creatinina es que no puede detectar daños renales leves, solo la falla renal demasiado tarde. Azotemia renal puede ser causada por nefritis, amiloidosis, necrosis tubular, neoplasias y, en fin, cualquier causa que afecte la función del riñón.

Azotemia posrenal puede ocurrir por causas obstructivas que impiden el flujo normal de la orina y se asocian a signos clínicos de oliguria y anuria. Los aumentos causados por factores renales y posrenales pueden ser diferenciados de las causas prerrenales (**Tabla 9.5**). En causas renales los aumentos de urea y creatinina son mayores, mientras que la densidad específica es baja. Algunos autores indican las siguientes densidades en la orina para sospechar de insuficiencia renal: menor que 1,025 en bovinos y equinos, menor que 1,030 en el perro y menor que 1,035 en el gato.

La creatinina, comparada con la urea, no se afecta por la dieta ni el catabolismo proteico, además aumenta poco en casos de deshidratación o falla cardiaca, a no ser en casos severos; no obstante, incrementa de forma más significativa y rápida en casos de insuficiencia renal y responde al tratamiento antes que la urea. Por tanto, la creatinina es mejor indicador de la función renal y del pronóstico en casos de insuficiencia renal, que la urea.

La disminución de urea y creatinina ocurre en casos de insuficiencia hepática, cuando disminuye su síntesis. También está asociada a dietas bajas en proteína. La disminución de creatinina puede ser vista en casos de caquexia con pérdida de la masa muscular.

La concentración plasmática de creatinina ha sido usada para clasificar el estadio de enfermedad renal en perros y gatos por la International Renal Interest Society (IRIS) (**Tabla 9.6**).

En enfermedad renal suele haber aumento de la presión arterial y así puede complementarse el riesgo de lesión renal de acuerdo con este criterio (**Tabla 9.7**). La medición de la presión sanguínea debe prever la ausencia de estrés del animal y usarse el promedio de varias mediciones. Los pacientes son clasificados según el riesgo de daño renal.

Estimación de la tasa de filtración glomerular con pruebas de depuración renal

Estas pruebas están basadas en la administración intravenosa de compuestos que apenas se excretan

Tabla 9.5 Diferencias analíticas de las principales causas de azotemia prerrenal y renal en caninos

Causa de azotemia	Urea	Creatinina	Densidad
Catabolismo proteico	Leve aumento (< 80 mg/dL)	Sin aumento (0,5-1,5 mg/dL)	Sin alteración (1,018-1,045)
Insuficiencia renal	Gran aumento (> 180 mg/dL)	Aumento significativo (> 2 mg/dL)	Disminución (< 1,015)
Deshidratación	Aumento moderado (< 100 mg/dL)	Aumento en casos graves (> 2,5 mg/dL)	Aumento (> 1,045)

Tabla 9.6 Clasificación del estadio de enfermedad renal crónica en perros y gatos con base en la concentración plasmática de creatinina (IRIS)

Estadio	Creatinina plasmática (mg/dL)		Comentarios
	Perros	Gatos	
En riesgo	< 1,4	< 1,6	Si la historia sugiere que el animal está en riesgo de desarrollar insuficiencia renal por exposición a drogas nefrotóxicas o debido a edad avanzada.
1	< 1,4	< 1,6	No azotémico, aunque con alguna anormalidad presente, tal como capacidad no adecuada de concentrar orina (densidad específica por debajo de 1,015), sin causa extrarrenal identificada, palpación renal o imagen anormal, proteinuria de origen renal, biopsia renal anormal, aumento de valores de creatinina en colectas seriadas.
2	1,4-2,0	1,6-2,8	Azotemia renal leve, signos clínicos leves o ausentes.
3	2,1-5,0	2,9-5,0	Azotemia renal moderada, signos clínicos pueden estar presentes, aunque con severidad variable. Si no hay signos, se considera estadio 3 inicial, con signos se clasifica como estadio 3 avanzado.
4	> 5,0	> 5,0	Riesgo creciente de signos clínicos sistémicos y crisis urémica.

Fuente: http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf

Tabla 9.7 Riesgo de lesión renal de acuerdo con la presión sistólica en perros

Presión sistólica sanguínea (mm Hg)	Clasificación de acuerdo con la presión sanguínea	Riesgo de lesión renal
< 140	Normotenso	Mínimo
140-159	Prehipertenso	Bajo
160-179	Hipertenso	Moderado
> 180	Severamente hipertenso	Alto

Fuente: http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf

por el riñón y no se reabsorben por los túbulos ni se metabolizan en ningún tejido. Entre otros compuestos, se utilizan creatinina e inulina (polímero de fructosa). En caso de insuficiencia renal esos compuestos tienen mayor persistencia en la sangre al realizar una cinética de excreción. Hoy día, debido al tiempo y esfuerzo que requieren, no aportan ventajas suficientes desde el punto de vista diagnóstico, de forma que apenas son usadas en investigación.

Calcio y fósforo

En pequeños animales la insuficiencia renal produce menor excreción de fósforo (P) por el riñón y, en consecuencia, hiperfosfatemia. De persistir el proceso, el fósforo causa disminución de calcio (Ca) circulante debido a la formación de complejos de ambos minerales que se depositan en los tejidos, y disminución de la relación Ca/P, lo que lleva a hiperparatiroidismo secundario. Este evento es un intento de aumentar los niveles de calcio a partir de su movilización a nivel óseo y aun de aumentar la excreción de fósforo a nivel renal. Como el riñón no está funcional, el fósforo no se excreta y el proceso se agrava cada vez más. Así, una señal de insuficiencia renal crónica en pequeños animales es el aumento de fósforo con calcio normal o disminuido, además de fragilidad ósea (osteodistrofia renal). En bovinos se puede presentar baja concentración de calcio en esos casos, aunque sin hiperfosfatemia, ya que el riñón no es el órgano principal de excreción de fósforo en esta especie. En caballos puede haber hipercalcemia, sobre todo en animales alimentados con dietas ricas en calcio, porque el riñón es el órgano fundamental en la excreción de calcio en esta especie, estando el fósforo normal o bajo.

Potasio

El riñón, de forma normal, excreta ácidos (H^+) y reabsorbe bicarbonato (HCO_3^-). En caso de insuficiencia renal el riñón no es capaz de cumplir esta función y, por tanto, hay acumulación de ácidos en la sangre, provocando acidosis metabólica. El potasio (K) sufre intercambio con hidrógeno a nivel celular al intentar compensar la acidosis, de forma que en la insuficiencia renal aparecen niveles elevados de potasio en la sangre (hipercalemia). La medición sérica de potasio en esos casos indica la severidad de la acidosis. Sin embargo, los bovinos pueden presentar un equilibrio ácido-básico normal, incluso alcalosis metabólica debido a la atonía ruminal secundaria que se produce, causando el secuestro de ácidos.

SDMA (dimetilarginina simétrica)

La SDMA es una molécula pequeña (peso molecular de 202) que sufre filtración renal igual o superior a 90 %, por lo que tiene alta correlación de la tasa de filtración glomerular. Los valores de SDMA suelen aumentar en plasma sanguíneo, en promedio diecisiete meses antes de la elevación de los valores de creatinina, por lo que se considera un marcador de disfunción renal más precoz, con elevada sensibilidad (100 %) y especificidad (92 %). El valor de referencia es hasta 14 µg/dL en perros y gatos.

Considerando la mayor sensibilidad de la SDMA que la creatinina para detectar insuficiencia renal, se aconseja seguir el siguiente criterio, complementario en clasificación de enfermedad renal de IRIS (**Tabla 9.6**): aumento persistente de SDMA, por encima de 14 µg/dL, sugiere función renal reducida, razón suficiente para considerar a un perro o un gato con creatinina plasmática menor que 1,4 o menor que 1,6 mg/dL, respectivamente, en estadio 1. En pacientes en estadio 2 con baja condición corporal, valores de SDMA mayores que 25 µg/dL pueden indicar que el grado de disfunción renal fue subestimado. En estos casos se recomienda considerarlo en estadio 3. Respecto de pacientes en estadio 3 con baja condición corporal, valores de SDMA mayores que 45 µg/dL pueden indicar que el grado de disfunción renal fue subestimado, en estos casos se recomienda considerarlo en estadio 4.

Hematocrito

En la insuficiencia renal crónica es característico el aparecimiento de anemia no regenerativa con ausencia de reticulocitos, no muy severa, que se desarrolla por la falta de síntesis de eritropoyetina renal. Tanto la anemia como el hiperparatiroidismo secundario renal son considerados mejores indicadores para diferenciar insuficiencia renal crónica de aguda, que los signos clínicos de oliguria (en la insuficiencia renal aguda) y poliuria (en la insuficiencia renal crónica), ya que pueden ser observados con frecuencia casos de poliuria en la insuficiencia renal aguda.

El urianálisis como herramienta para evaluar la función renal

La función renal es vital para la excreción por la orina de compuestos producidos en el catabolismo y que no tienen ninguna función metabólica. También es la vía de eliminación de compuestos excedentes del metabolismo y de sustancias tóxicas, medicamentos y cualquier compuesto exógeno innecesario o perjudicial al organismo. De forma general, las principales funciones

del riñón comprenden, a nivel de glomérulos renales, la filtración de componentes derivados del metabolismo que pueden ser tóxicos al organismo y, a nivel de túbulos, la reabsorción de agua, propiciando la concentración de la orina, además de electrolitos, glucosa y otros solutos. Esta última función determina la homeostasis hidroelectrolítica y ácido-básica del plasma sanguíneo, siendo controlada por hormonas de forma muy delicada y eficiente. La vasopresina de la neurohipófisis y la aldosterona del córtex adrenal son dos hormonas que intervienen en la manutención del volumen circulante y la osmolaridad del plasma, actúan directamente en los túbulos renales. La PTH y la calcitonina, a su vez, participan en el riñón para controlar la calcemia. El riñón también ejerce otras actividades, como la síntesis de renina (enzima proteolítica que obra sobre el angiotensinógeno, precursor de la angiotensina II, compuesto estimulador de la síntesis de aldosterona), síntesis de eritropoyetina (hormona estimuladora de la producción de eritrocitos) y síntesis de la enzima 1α-hidroxilasa (activadora de la vitamina D).

La falla en la función renal puede tener varios grados, lo que se refleja en una amplia variedad de signos clínicos. La principal observación en esa situación es el aumento de los valores plasmáticos de urea y creatinina (azotemia), compuestos nitrogenados de excreción que pueden causar letargo, anorexia, vómito, diarrea, ulceraciones gástricas, anemia y alteraciones en las características fisicoquímicas de la orina. Una falla renal total puede causar la muerte del animal en apenas una semana. El problema de la falla renal es doble, pues el organismo tiene dificultad no solo por cuenta de la inadecuada excreción de compuestos tóxicos, debido a la falla en la filtración glomerular, sino también por la pérdida de compuestos que deben ser reabsorbidos.

Además de evaluar la función renal, el urianálisis suministra informaciones importantes del metabolismo animal, ya que compuestos anormalmente elevados en determinadas enfermedades se excretan vía renal, como es el caso de los cuerpos cetónicos en la cetosis o de la glucosa en la diabetes mellitus. El urianálisis debe incluir siempre la evaluación de características organolépticas, fisicoquímicas y sedimento.

Características organolépticas

Apariencia: la orina sin alteraciones patológicas es transparente y clara, excepto en el caballo, en que normalmente es turbia debido a la presencia de cristales de carbonato cálcico y moco. En esa especie el riñón es el principal órgano excretor de calcio. Una orina turbia sugiere alguna alteración, como inflamación, hemorragia o cristaluria.

Color: el color normal de la orina es amarillo. Color disminuido sugiere orina diluida; color amarillo oscuro sugiere orina concentrada o presencia de bilirrubina; color rojo o marrón indica eritrocitos o hemoglobina; color rosa o naranja advierte porfirinas.

Olor: la orina de cada especie animal tiene un olor particular (*sui generis*), influenciado sobre todo por la cantidad y tipo de ácidos orgánicos volátiles que contiene. Un olor amoniacal en la orina fresca denota infección del tracto urinario por bacterias productoras de ureasa, que transforman la urea en amonio. También en casos de cetosis puede aparecer olor a acetona o a fruta madura.

Volumen: la cuantificación del volumen de orina en animales es laboriosa. Para eso tendrá que mantenerse al animal en jaula metabólica durante veinticuatro horas. Así, la cantidad se estima de forma indirecta por la densidad de la orina. A menor densidad, debe haber mayor volumen de orina, salvo en la diabetes mellitus, en que la glucosa excretada causa aumento de la densidad urinaria y del volumen.

Características fisicoquímicas

Son determinadas con refractómetro (para determinar la densidad específica), y con tiras reactivas (para determinar parámetros químicos). Todas las pruebas hechas con tiras reactivas deben ser vistas junto con la densidad. Así, una proteinuria de 2+ es mucho más significativa e importante en una orina con densidad de 1,008 que en otra con densidad de 1,040. También hay que considerar variaciones de sensibilidad a fin de detectar los parámetros fisicoquímicos, de acuerdo con la marca de las tiras reactivas.

Densidad específica

Debe ser determinada con refractómetro, y no con tira reactiva. Normalmente la capacidad de concentrar la orina se considera un indicador más sensible y precoz de la función renal, comparado con los marcadores de filtración glomerular (urea y creatinina), pues la baja

en capacidad de concentrar orina aparece cuando el 68 % del riñón está funcionalmente afectado, mientras que aumentos de urea y creatinina aparecen cuando el 75 % de la funcionalidad renal está alterada. El mayor control del volumen de orina y en la capacidad renal de concentrar ocurre en el túbulo contorneado distal y en los túbulos colectores. En esa zona hay exceso de solutos dentro del túbulo (zona hipertónica), siendo la reabsorción de agua controlada por la hormona ADH. La densidad específica refleja el grado de concentración de la orina y, por tanto, la capacidad de los túbulos renales de concentrar la orina. La densidad específica es definida por el cociente entre la masa de solución de orina y la masa de un volumen igual de agua. Siendo un cociente entre dos magnitudes iguales, no tiene unidades. Se recomienda, para evitar fluctuaciones de la densidad durante el día por la ingestión de agua, medir la densidad en la orina tomada en la primera hora de la mañana, que debe ser la más concentrada.

La densidad del filtrado glomerular, sin entrar a los túbulos, es de 1,008 a 1,012. Una orina que presente esta densidad (isostenuria o densidad igual al plasma) indica que el riñón no hizo ninguna actividad de concentración de la orina a nivel de túbulos. Los valores de referencia de densidad urinaria son, aproximadamente: 1,025 a 1,030 en caballo y bovino; 1,030 a 1,035 en el perro; 1,035 a 1,045 en el gato. Aumentos en la densidad son observados en estados de deshidratación. Disminución en la densidad sugiere que el riñón no está funcionando bien y no concentra la orina, como en la insuficiencia renal. La densidad asociada con insuficiencia renal está entre 1,008 y 1,012. Valores entre 1,012 y el límite inferior del valor normal de densidad en cada especie son difíciles de interpretar. En esos casos se recomienda realizar mediciones seriadas. Bajas severas de la densidad (*washout* medular) son debidas a alteraciones de la ADH. La orina puede tener densidad menor que el filtrado glomerular (menor que 1,008) en la llamada hipostenuria, que ocurre en un proceso activo en que el riñón 'trabaja' para diluir la orina. Eso no puede asociarse a insuficiencia renal, sino a otras causas, como en la diabetes insípida central o nefrogénica. Esta última puede ser adquirida en procesos que cursan con hipercalcemia, hiperparatiroidismo (PTH es antagonista de ADH) o hiperadrenocorticismo (cortisol en exceso altera la liberación y antagoniza ADH) o piómetra (antagonismo de la ADH por toxinas bacterianas). Otras causas de la hipostenuria comprenden: polidipsia psicógena, insuficiencia hepática (por baja en la síntesis de urea, que es fundamental en la formación del gradiente de concentración medular renal), y fármacos (corticoides, diuréticos, anticonvulsivantes, terapia con fluidos). En un futuro, si los avances técnicos permiten métodos simples para su medición, se podrá usar la determinación de la osmolaridad de orina en vez de la densidad específica, por ser un parámetro más sensible para evaluar la capacidad de concentración urinaria, ya que la densidad de la orina puede aumentar en forma falsa cuando hay cantidades altas de albúmina o glucosa.

pH

Depende de la alimentación. Los animales carnívoros tienen pH ácido o neutro, mientras que los herbívoros tienen pH neutro a alcalino. Un pH básico en la orina de carnívoros indica, con alta probabilidad, infección bacteriana en el trato urinario (sobre todo cistitis).

Proteinuria

Normalmente la orina no debe contener proteínas. En la proteinuria debe diferenciarse su causa:

(a) Proteinuria prerrenal: en casos de fiebre, problemas cardíacos, choque y hemoglobinuria. Es transitoria y de poca magnitud. De forma menos común ocurre en tumores de células plasmáticas, que producen proteínas de bajo peso molecular capaces de atravesar el glomérulo (proteínas Bence-Jones) y precipitar a menor temperatura que las proteínas normales.

(b) Proteinuria renal: por alteración de la filtración glomerular o la reabsorción, aumentando el contenido de proteínas en la orina de forma significativa.

(c) Proteinuria posrenal: en inflamación del tracto urinario inferior (vejiga, uretra, próstata). Para diferenciar de la renal, además del cuadro clínico, conferir que en la proteinuria posrenal también haya sangre, leucocitos u otros indicadores de inflamación en el sedimento urinario.

Aunque la proteinuria pueda ser detectada mediante tiras reactivas, puede haber resultados falsos positivos en casos de orina muy alcalina (rumiantes), de forma que son más apropiados métodos espectrofotométricos para su cuantificación. La

relación proteína/creatinina en la orina es usada como indicador más sensible de proteinuria, porque se correlaciona muy bien con la excreción de proteína en la orina en veinticuatro horas. La interpretación de este cociente considera como referencia un valor menor que 0,4.

Valores mayores pueden estar asociados a:

(1) Inflamaciones del tracto urogenital, detectadas por alteraciones en el sedimento urinario. Parece que la contaminación de sangre debido a la obtención de orina por cistocentesis no afecta significativamente esa relación, aun cuando las tiras reactivas detectan sangre.

(2) Proteinuria por causas prerrenales, como fiebre, problemas cardíacos, choque o hemoglobinuria.

(3) Pérdida de proteínas a nivel de túbulo renal (síndrome nefrótico): cuanto mayor sea la relación (mayor que 2), acompañada de sedimento inactivo (sin células ni bacterias), mayor será el problema renal.

En general se considera que la proteinuria detecta problemas renales cuando hay 70 % de nefrones afectados. Así, tendría una capacidad de detección intermediaria, en términos de nefrones afectados, entre la densidad de la orina (66 %) y los valores de urea/creatinina (75 %). No obstante, hay casos de insuficiencia renal en que no se produce proteinuria. Es posible observar proteinuria en animales recién nacidos, causada por las proteínas del calostro.

Un caso particular de proteinuria es la presencia de microalbuminuria persistente, la cual parece ser un indicador de daño glomerular asociado con daño renal inicial en humanos y caninos. Ha sido desarrollado un test para detectar microalbuminuria en el perro, aunque no hay estudios completos que evalúen su comparación con los marcadores clásicos de insuficiencia renal.

Una vez que las tiras de urianálisis para detectar proteinuria suelen dar falsos positivos, se sugiere determinar la proteinuria mediante el test turbidimétrico del ácido sulfosalicílico. La relación proteína/creatinina urinaria debe ser siempre medida, desde que no haya evidencia de inflamación o hemorragia del tracto urinario y que la medición de proteínas plamáticas descarte disproteinemias. Puede ser determinada condición de proteinuria de acuerdo con la relación proteína/creatinina de conformidad con el criterio observado en la **Tabla 9.8**. Lo ideal es que el estadio sea realizado con base en al menos dos muestras de orina colectadas en el período de dos semanas.

Tabla 9.8 Condición de proteinuria con base en la relación proteína/creatinina urinaria (P/C)u en perros y gatos

Valor de (P/C)u		Condición
Perros	Gatos	
< 0,2	< 0,2	No proteinúrico
0,2-0,5	0,2-0,4	Proteinúrico en el límite
> 0,5	> 0,4	Proteinúrico

Fuente: http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf

Pacientes persistentemente en el límite de proteinuria (clasificados como microalbuminúricos) deben ser reevaluados en dos meses y reclasificados. La proteinuria suele declinar a medida que la disfunción renal empeora, de forma que no es frecuente en animales en estadios 3 o 4 de enfermedad renal (**Tabla 9.6**).

Glucosa

Normalmente la orina no contiene glucosa, ya que, aunque filtrada de forma libre por el glomérulo, es reabsorbida totalmente en los túbulos proximales. El aparecimiento de glucosuria indica nivel de glucosa plasmática elevada (superior a 180 mg/dL en el perro, 280 mg/dL en el gato y 100 mg/dL en rumiantes), valores que exceden el umbral renal de reabsorción de glucosa y están asociados a diabetes mellitus u otras causas de hiperglucemia permanente o transitoria. En el perro puede haber glucosuria sin hiperglucemia elevada, por defectos en la reabsorción tubular en el síndrome de Faconi. Algunas tiras reactivas pueden reaccionar con ácido ascórbico (en la mayoría de los animales en cantidades significativas en la orina) y dar resultados falsos positivos. Esa información debe ser confirmada antes de utilizarla.

Cuerpos cetónicos

En la orina no deben ser encontrados cuerpos cetónicos de forma normal, pues después de ser filtrados en el glomérulo son totalmente reabsorbidos en los túbulos

proximales. Su presencia indica, en los rumiantes, la existencia de cetosis, y en los pequeños animales, la fase cetoacidótica de la diabetes mellitus. Las tiras reactivas (nitroprusiato de sodio) no detectan beta-hidroxibutirato, sino acetoacetato y acetona.

Sangre, hemoglobina, mioglobina

La presencia de cualquiera de esos tres componentes da resultado positivo al test de sangre oculta en la tira reactiva. Por tanto, hay que diferenciarlo de la siguiente forma:

— Sangre: al centrifugar la orina, ella queda más clara y son observados eritrocitos en el sedimento. Cuidar que, en caso de una orina hipotónica, pueda haber lisis de los eritrocitos. La presencia de eritrocitos en la orina indica hemorragia o inflamación en el tracto urinario.

— Hemoglobinuria: asociada con destrucción de eritrocitos en circulación (hemólisis), con presencia de anemia e ictericia.

— Mioglobinuria: asociada a procesos de lesión muscular. En ese caso el paciente tendrá aumentada la creatina quinasa en el plasma y signos de daño muscular.

Una forma de diferenciar hemoglobina de mioglobina en la orina es mediante la adición de sulfato de amonio saturado a 80 % (2,8 g de sulfato de amonio en 5 mL de orina) y posterior centrifugación. Si hay hemoglobina, precipitará con el sulfato de amonio y dará un sobrenadante de color amarillo. Si hay mioglobina, ella permanecerá en solución y el sobrenadante se mantendrá rojizo.

Leucocitos

Si la prueba de leucocitos da positiva indica la presencia de una inflamación en el tracto urinario. Debe ser hecha la comprobación con la observación del sedimento, porque parece que esta prueba no es tan sensible en los animales como en humanos, ya que la mayoría de las tiras reactivas detectan los leucocitos mediante una esterasa leucocitaria específica encontrada en leucocitos humanos, pero no en las especies animales.

Bilirrubina

Aumentos de bilirrubina en la orina sugieren enfermedad hepática, obstrucción biliar o enfermedad hemolítica, procesos que causan aumento de la bilirrubina conjugada. En el perro puede haber hasta 2+ de bilirrubina conjugada en la orina de forma normal.

Urobilinógeno

En humanos esta prueba ha sido empleada para detectar obstrucción biliar, pero en la mayoría de los animales estudiados fue demostrada baja correlación entre la concentración de urobilinógeno en la orina y alteraciones biliares.

Enzimas en la orina

En la orina pueden ser medidas la gama-glutamil transferasa (GGT) y la N-acetil-glucosaminidasa (NAG). Ambas enzimas están localizadas en las células del túbulo renal y pueden aumentar en la orina por una lesión tubular, sin pasar para la circulación. La NAG se conserva bien en congelamiento y la GGT en refrigeración. Se ha demostrado que en daños inducidos por agentes nefrotóxicos la actividad de esas enzimas en la orina aumenta varios días antes que la urea y la creatinina, de forma que tienen el potencial de ser usadas en la clínica como marcadores de insuficiencia renal.

Examen de sedimento

Para examinar el sedimento la orina debe ser centrifugada a baja rotación (1.000-1.500 rpm) por cinco minutos, para evitar daño en sus componentes. Como mínimo deben centrifugarse 5 mL de orina. El sobrenadante es retirado, dejando apenas el sedimento, y cerca de 0,5 mL de la parte inferior del tubo son usados. Este sedimento debe ser suavemente mezclado para obtener muestras que puedan ser examinadas al microscopio. En fresco se coloca un par de gotas del sedimento de orina en lámina con laminilla encima. Para la valoración microscópica se usan los objetivos de 10, 20 y 40. Es recomendable usar el máximo de luz con el diafragma casi cerrado por completo. Con colorantes se realiza frotis con una gota del sedimento, tiñendo con colorantes empleados en el laboratorio. En el sedimento se estudian los parámetros que siguen:

— Células sanguíneas: es normal encontrar hasta tres eritrocitos y/o leucocitos por campo de 400x. Un número aumentado sugiere hemorragia o inflamación del tracto urinario.

— Células del tracto urinario: pueden aparecer en pequeño número (0-1 por campo de 400x) en orinas normales.

— Células escamosas: proceden de la uretra, vagina o prepucio. Son grandes, poligonales con contorno irregular y núcleo pequeño y redondeado.

— Células de transición: proceden de vejiga, uréter, pelvis renal y uretra proximal. Son menores que las escamosas y de forma variable (oval o alongada). Las células de la pelvis renal tienen forma de raqueta característica.

— Células del epitelio renal: son de tamaño similar a un leucocito, redondeadas y con núcleo grande, difíciles de distinguir de los leucocitos o las células de la vejiga. Un número aumentado de esas células sugiere alteración inflamatoria renal. También pueden aparecer células tumorales. Para identificar células del epitelio renal o neoplásicas se recomienda realizar frotis y tinción del sedimento urinario de forma similar al frotis sanguíneo.

— Cilindros: la orina normal contiene de uno a dos cilindros hialinos o granulares por campo de 400x. Un aumento en la cantidad de cilindros indica alteraciones en el tracto urinario superior. Los cilindros se forman en los túbulos renales y pueden ser encontrados los siguientes tipos: (a) cilindros hialinos, asociados a proteinuria; (b) cilindros granulares, asociados a daños degenerativos tubulares; (c) cilindros de leucocitos, asociados a inflamación renal; (d) cilindros de eritrocitos, asociados a hemorragias renales, por lo general resultado de traumatismos.

— Bacterias: en condiciones normales no aparecen bacterias en la orina si ella es colectada por cistocentesis, aunque pueden aparecer en la colecta por catéter o por micción espontánea (más acentuado). Presencia de bacterias en la orina colectada asépticamente indica proceso infeccioso.

— Cristales: aunque se describen numerosos cristales en la orina, los más importantes desde el punto de vista clínico son: (a) cristales de biuret, amonio o uratos amorfos, indican insuficiencia hepática; (b) cristales de fosfato triple, aumentados en carnívoros indican inflamación del tracto urinario; (c) cristales de carbonato y oxalato cálcico, comunes en la orina de caballos y rumiantes, pero en pequeños animales están asociados a intoxicación por etilenoglicol; (d) cristales de aminoácidos: de tirosina indican alteraciones hepáticas, y de cisteína señalan alteraciones renales.

— Otros componentes: pueden ser encontradas gotas de grasa (que no deben ser confundidas con eritrocitos), alta concentración de espermatozoides en machos, hongos y levaduras, como resultado de contaminación.

9.7 Bibliografia

Abeni, F., Calamari, L., y Stefanini, L. (2007). Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po Valley. 1. Blood indicators of heat stress. *International Journal of Biometeorology, 52,* 87-96.

Althaus, R., Roldán, V., Scaglione, L., Elizalde, F., Sosa, J., y Malinskas, G. (1995). Perfiles metabólicos en ovejas lactantes Corriedale: variación durante la lactancia. *Revista Argentina de Producción Animal, 15,* 1055-1058.

Alvarenga, E. A., Moreira, G. H., Facury Filho, E. J., Leme, F. O., Coelho, S. G., Molina, L. R., y Carvalho, A. U. (2015). Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. *Pesq. Vet. Bras., 35,* 281-290.

Alvarenga, P. B., Rezende, A. L., Justo, F. B., Rezende, S. R., Cesar, J. C., Santos, R. M. y Saut, J. P. (2017). Perfil metabólico de vacas Jersey clinicamente saudáveis. *Pesq. Vet. Bras., 37,* 195-203.

Alves, M. F. C. C., González, F. H. D., Carvalho, N., Mühlbach, P., Lima, V., Conceição, T. R. et al. (2004). Feeding dairy cows with soybean by-products: effects on metabolic profile. *Ciência Rural, 348,* 239-243.

Amorim, R. G., Borges, A. S., Kuchembuck, M. R., Takahira, R. K., y Alencar, N. X. (2003). Bioquímica sérica e hemograma de bovinos antes e após a técnica de biópsia hepática. *Ciência Rural, 33,* 519-523.

Antunovic, Z., Sencic, D., Speranda, M., y Liker, B. (2002). Influence of the season and the reproductive status of ewes on blood parameters. *Small Ruminant Research, 45*, 39-44.

Bani-Ismail, Z. A., Al-Majali, A. M., Amireh, F., y Al-Rawashdeh, O. F. (2008). Metabolic profiles in goat does in late pregnancy with and without subclinical pregnancy toxemia. *Vet. Clin. Pathol., 37*, 434-437.

Benesi, F. J., Leal, M. L., Lisboa, J. A., Coelho, C. S., y Mirandola, R. M. (2003). Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Ciência Rural, 33,* 311-317.

Brito, M. A., González, F. H. D., Ribeiro, L. A., Campos, R., Lacerda, L., Barbosa, P. R., y Bergmann, G. (2006). Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural, 36*, 942-948.

Campos, R., Cubillos, C., y Rodas, A. G. (2007). Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia. *Acta Agronomica, 56,* 85-92.

Campos, R., González, F. H. D., Coldebella, A., y Lacerda, L. (2007). Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. *Ciência Animal Brasileira, 8,* 241-249.

Campos, R., González, F. H. D., Lacerda, L., y Coldebella, A. (2005). Perfil metabólico obtenido de pool de sueros o de muestras individuales. *Archivos de Zootecnia, 54,* 113-116.

Ceballos, A., Villa, N. A., Bohórquez, A., Quiceno, J., Jaramillo, M., y Giraldo, G. (2002). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en lecherías del trópico alto del Eje Cafetero colombiano. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 15,* 26-35.

Ceballos, A., Wittwer, F. G., Contreras, P. A., Quiroz, E., y Böhmwald, H. L. (1999). Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq. Agropec. Bras.*, *34*, 2331-2338.

Celeska, I., Janevski, A., Dzadzovski, I., Ulchar, I., y Kirovski, D. (2015). The dynamics of biochemical parameters in blood of clinically healthy Holstein cows from day 5 before to day 60 after calving. *Macedonian Veterinary Review, 38,* 189-193.

Cerón, J. J., Subiela, S. M., Hennemann, C., y Tecles, F. (2004). The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. *The Veterinary Journal, 167,* 294-301.

Chan, P. S., West, J. W., Bernard, J. K., y Fernández, J. M. (2005). Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. *Journal of Dairy Science, 88,* 4384-4392.

Contreras, P. A., Moller, I., Wittwer, F., y Tadich, N. (1990). Concentraciones sanguíneas de glucosa, colesterol, cuerpos cetónicos y actividad de aspartato aminotransferasa en ovejas con gestación única y gemelar en pastoreo rotacional intensivo. *Archivos de Medicina Veterinaria, 22,* 65-69.

Contreras, P. A., Valenzuela, L., Wittwer, F., y Böhmwald, H. (1996). Desbalances metabólicos nutricionales más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria, 28,* 39-50.

Corah, L. (1996). Trace mineral requirements of grazing cattle. *Animal Feed Science and Technology, 59,* 61-70.

Cote, J. F., y Hoff, B. (1991). Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. *The Bovine Practitioner, 26,* 7-11.

Cozzi, G., Ravarotto, L., Gottardo, F., Stefani, A. L., Contiero, B., y Moro, L. (2011). Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *Journal of Dairy Science, 94,* 3895-3901.

Del Valle, J., Wittwer, F., y Hervé, M. (1983). Estudio de los perfiles metabólicos durante los períodos de gestación y lactancia en ovinos Romney. *Archivos de Medicina Veterinaria, 15,* 65-72.

El-Zarkouny, S. Z., Shaaban, M. M., y Stevenson, J. S. (2011). Blood metabolites and hormone-based programmed breeding treatments in anovular lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science, 94,* 6001-6010.

Fajardo, H., y Viamonte, M. I. (1992). Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los ruminantes. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias, 23,* 33-44.

Fernández, A., Ramos, J. J., Marca, M. C., y Gómez, J. (1990). Valores de referencia en perros sanos con su sistema de espectrofotometría de reflectancia, con tiras reactivas. III. Metabolitos sanguíneos (colesterol, triglicéridos, bilirrubina y urea). *Medicina Veterinaria, 7,* 433-441.

Fernández, A., Ramos, J. J., Sáez, T., Cebrian, L. M., Verde, M. T., y Marca, M. C. (1993). Valoración rápida de parámetros bioquímicos en plasma de ganado vacuno lechero. *Frisona Española,* 74-75.

Fernández, A., Ramos, J. J., Sanz, M. C., Sáez, T., y Fernández, D. (1996). Alterations in the performance, haematology and clinical biochemistry of growing lambs fed with aflatoxin in the diet. *Journal of Applied Toxicology, 16,* 85-91.

Fernández, A., Verde, M. T., Gascón, M., Ramos, J. J., Gómez, J., Luco, D. F. et al. (1994). Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Pathology, 23,* 37-47.

Furlan, R. L., Tucci, R. M., Nakaghi, L. O., y Secato, E. R. (1993). Effect of age and strain on haematological and gasometric parameters in selected and non-selected broiler chickens. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 30,* 141-144.

Gascoyne, S. C., Bennet, P. M., Kirkwood, J. K., y Hawkey, C. M. (1994). Guidelines for the interpretation of laboratory findings in birds and mammals with unknown reference ranges: plasma biochemistry. *Veterinary Record, 134,* 7-11.

González, F. H. D. (1997). O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 25,* 13-33.

González, F. H. D. (2000). Indicadores do metabolismo mineral em ruminantes. En F. H. D. González, J. O. Barcellos, H. O. Patiño y L. A. Ribeiro (eds.), *Perfil metabólico em ruminantes, seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (pp. 31-51). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

González, F. H. D. (2000). Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes. En F. H. D. González, J. O. Barcellos, H. O. Patiño y L. A. Ribeiro (eds.), *Perfil metabólico em ruminantes, seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (pp. 89-106). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

González, F. H. D. (2000). Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. En F. H. D. González, J. O. Barcellos, H. O. Patiño y L. A. Ribeiro. *Perfil metabólico em ruminantes – Seu uso em nutrição e doenças nutricionais* (pp. 63-74). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

González, F. H. D. (2001). Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. *Revista MVZ, 3,* 45-52.

González, F. H. D., Carvalho, V., Möller, V. M. C., y Duarte, F. (2001). Perfil bioquímico sangüíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 29,* 1-6.

González, F. H. D., Duarte, C., López, A., Olarte, M., Rey, M., y Campos, R. (1994). Influencia del manejo nutricional y la condición corporal en el desempeño reproductivo y el perfil metabólico en el posparto de vacas lecheras. *Revista da Acovez, 17,* 6-9.

González, F. H. D., Duarte, F., Brum, A., Capp, C., La Rosa, V. L., y Weissheimer, C. (2003). Plasma and urine levels of calcium, phosphorus and magnesium in growing cats. *Acta Scientiae Veterinariae, 31,* 39-43.

González, F. H. D., Haida, K. S., Zanolla, N., y Figur, K. C. (1996). Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 24,* 11-24.

González, F. H. D., y Möller, V. M. C. (1998). Plasma biochemical profile in dogs with gastrointestinal disorders. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 26,* 52-64.

González, F. H. D., y Rocha, J. A. (1998). Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in Southern Brazil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 26,* 52-64.

Gresham, A. C. J. (1994). Porcine clinical biochemistry. *The Pig Journal, 32,* 58-67.

Gross, J., Van Dorlan, H. A., Bruckmaier, R. M., y Schwarz, F. J. (2011). Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *Journal of Dairy Science, 94,* 1820-1830.

Haida, K. S., González, F. H. D., Parzianello, N., Langer, C. F., Zanolla, N., Figur, K. C. et al. (1996). Estudo do perfil metabólico de um rebanho leiteiro do oeste do Paraná. *Semina, 17,* 72-76.

Horton, G. M. J., Baldwin, J. A., Emaniele, S. M., Wohlt, J. E., y McDowell, L. R. (1996). Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *Animal Science, 62,* 49-56.

Ingraham, R. H., y Kappel, L. C. (1988). Metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 4,* 391-411.

International Renal Interest Society (IRIS). IRIS staging for CKD. Recuperado de http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html

Jelínek, P., Gajdusek, J., e Illek, J. (1996). Relationship between selected indicators of milk and blood in sheep. *Small Ruminant Research, 20,* 53-57.

Jensen, A. L., y Aaes, H. (1993). Critical differences of clinical-chemical parameters in blood from dogs. *Research in Veterinary Science, 54,* 10-14.

Jensen, A. L., Home, H., y Nielsen, C. G. (1992). Critical differences of clinical-chemical parameters in blood from Red Danish dairy cows. *Research in Veterinary Science, 52,* 86-89.

Kataria, A. K., Kataria, N., Bhatia, J. S., y Ghosal, A. K. (1993). Blood metabolic profile of Marwari goats in relation to seasons. *Indian Veterinary Journal, 70,* 761-762.

Kaushish, S. K., Karim, S. A., y Rawat, P. S. (2000). Physiological responses and metabolic profile of lambs in growth phase. *Indian Journal of Animal Science, 70,* 616-618.

Kelly, J. M. (1996). The use of metabolic profiles in dairy cows. *Cattle Practice,* 46-48.

Khaled, N. F., Illek, J., y Gajdusek, S. (1999). Interactions between nutrition, blood metabolic profile and milk composition in dairy goats. *Acta Veterinaria Brno, 68,* 253-258.

Kida, K. (2002). The metabolic profile test: its practicability in assessing feeding management and periparturient diseases in high yielding commercial dairy herds. *Journal of Veterinary Medical Science, 64,* 557-563.

Kida, K. (2003). Relationships of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science, 65,* 671-677.

Kolver, E. S., y MacMillan, K. L. (1994). Variation in selected blood plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal, 42,* 161-166.

Li, X. Z., Park, B. K., Yan, C. G., Choi, J. G., Ahn, J. S., y Shin, J. S. (2012). Effect of alcohol fermented feed on lactating performance, blood metabolites, milk fatty acid profile and cholesterol content in Holstein lactating cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science, 25,* 1546-1552.

Lopes, S. T. A., Costa, P. R. S., Ran, L. C. R., Krause, A., Dutra, V., y Carvalho, C. B. (1993). Determinação dos valores médios das enzimas AST, LDH, GGT e FAS no soro de equinos sadios em Santa Maria, RS. *Ciência Rural, 23,* 301-303.

Manalu, W., y Sumaryadi, M. Y. (1999). Correlations between lamb birth weight and the concentrations of hormones and metabolites in the maternal serum during pregnancy. *Journal of Agricultural Science, 133,* 227-234.

Marchesini, G., DeNardi, R., Gianesella, M., Stefani, A. L., Morgante, M., Barberio, A. et al. (2013). Effect of induced ruminal acidosis on blood variables in heifers. *BMC Veterinary Research, 9,* 98-106.

Milne, E., y Scott, P. (2006). Cost-effective biochemistry and haematology in sheep. *In Practice,* september, 454-461.

Mohanty, K. C., Mohanty, B. N., Ray, S. K., y Mohanty, D. N. (1994). Levels of glucose, calcium and alkaline phosphatase in blood with relation to retention of placenta in bovines. *Indian Journal of Animal Reproduction, 15,* 21-23.

Moore, F. (1997). Serum chemistry profiles in dairy cows - A herd management tool? *Veterinary Medicine,* 986-991.

Mulei, C. M. (1991). Changes in blood chemistry in late pregnancy and early lactation and their relationships to milk production in dairy cows. *Bulletin of Animal Health Production, 39,* 77-81.

Nakai, N., Nawa, K., Maekawa, M., y Nagasawa, H. (1993). Age-related changes in hematological and serum biochemical values in cats. *Experimental Animals, 41*, 287-294.

Nelson, R. W., y Couto, C. G. (1994). Testes diagnósticos para o sistema hepatobiliar /Testes diagnósticos para o sistema urinário. En *Fundamentos de medicina interna de pequenos animais* (pp. 281-349). São Paulo: Guanabara Koogan.

O´Sullivan, M. (2001). Biochemical markers of nutritional status. *Clinical Laboratory International, 25,* 14-16.

Otto, F., Ibáñez, A., Caballero, B., Hadani, A., y Bogin, E. (1993). Changes in blood composition of cattle as related to serology, growth rate, tick infestation and haemoparasites. *Israel Journal of Veterinary Medicine, 48,* 27-34.

Patra, R. C., Lal, S. B., y Swarup, D. (1996). Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Ruminant Research, 19,* 177-180.

Payne, J. M., Dew, S. M., Manston, R., y Faulks, M. (1970). The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Veterinary Record, 87,* 150-158.

Peixoto, L. A. O., y Osorio, M. T. M. (2007). Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. *Revista Brasileira de Agrociência, 13,* 299-304.

Quintela, L. A., Becerra, J. J., Rey, C., Díaz, C., Cainzos, J., y Rivas, F. (2011). Perfiles metabólicos en preparto, parto y posparto en vacas de raza Rubia Gallega: estudio preliminar. *Recursos Rurais,* 5-14.

Quiroz-Rocha, G. F., LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Wood, D., Leslie, K. E., y Jacobs, R. M. (2009). Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *Canadian Veterinary Journal, 50,* 383-388.

Ramos, J. J., Verde, M. T., Marca, M. C., y Fernández, A. (1994). Clinical chemical values and variations in Rasa Aragonesa ewes and lambs. *Small Ruminant Research, 13,* 133-139.

Ribeiro, L. A., Mattos, R. C., González, F. H. D., Wald, V., Silva, M. A., y La Rosa, V. L. (2004). Perfil metabólico de ovelhas Border Leicester x Texel durante a gestação e a lactação. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 99,* 155-159.

Rich, L., y Coles, E. (1989). Tables of abnormal blood values as a guide to disease syndromes. En S. J. Ettinger (ed.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Philadelphia: W. B. Saunders.

Rossato, W., González, F. H. D., Dias, M. M., Riccó, D., Valle, S. F., y Rosa, V. (2001). Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. *Archives of Veterinary Science, 6,* 83-88.

Roussel, A. J., Whitney, M. S., y Cole, D. J. (1997). Interpreting a bovine serum chemistry profile: part 1. *Veterinary Medicine,* 553-566.

Ruginosu, E., Creanga, S., Sofronie, M., Malancus, R., Boghian, V., y Solcan, G. (2011). The biochemical profile in cows with reproductive disorders. *Cercetari Agronomice in Moldova, 44,* 75-86.

Rupde, N. D., Rode, A. M., Sarode, D. B., Zade, N. N., Japtap, D. G., y Kaikini, A. S. (1993). Serum biochemical profile in repeat breeders. *Indian Journal of Animal Reproduction, 14,* 79-81.

Sáez, T., Ramos, J. J., Marca, M. C., Sanz, M. C., Fernández, A., y Verde, M. T. (1996). Haematological and biochemical changes in the blood of ewes and lambs after selenium and vitamin E injection. *Journal of Applied Animal Research, 9,* 51-60.

Salih, Y., McDowell, L. R., Hentges, J. F., y Wilcox, C. J. (1986). Effect of mineral supplementation of Brahman cows on blood minerals and metabolic profiles in Brahman calves. *Nutrition Reports International, 34,* 357-364.

Speeti, M., Ihantola, M., y Westermarck, E. (1996). Subclinical versus clinical hepatitis in the Doberman: evaluation of changes in blood parameters. *Journal of Small Animal Practice, 37,* 465-470.

Steiss, J. E., Brewer, W. G., Welles, E., y Wright, J. C. (2000). Hematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Compendium, 22,* 243-250.

Stengärde, L., Holtenius, K., Travén, M., Hultgren, J., Niskanen, R., y Emanuelson, U. (2010). Blood profiles in dairy cows with displaced abomasum. *Journal of Dairy Science, 93,* 4691-4699.

Strasser, A., Niedermuller, H., Hofecker, G., y Laber, G. (1993). The effect of aging on laboratory values in dogs. *Journal Veterinary Medical Series A, 40,* 720-730.

Whitaker, D. A., Goodger, W. J., García, M., Perera, B. M. A. O., y Wittwer, F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine, 38,* 119-131.

Wittwer, F. (1995). Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. *Buiatria, 2,* 16-20.

Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A., y Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria, 19,* 35-45.

Wittwer, F., Böhnwald, H., y Klaasen, M. V. (1986). Efecto del tiempo, temperatura de conservación y del anticoagulante (EDTA/NaF) en muestras para perfiles metabólicos. *Archivos de Medicina Veterinaria, 18,* 43-51.

Wittwer, F., Hemer, G., Contreras, P. A., y Böhmwald, T. M. (1993). Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria, 15,* 83-88.

Wittwer, F., Reyes, J. M., Opitz, H., Contreras, P. A., y Böhmwald, H. (1993). Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Archivos de Medicina Veterinaria, 25,* 165-172.

Zust, J., Hrovatin, B., y Simundic, B. (1996). Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec. 139*, 391-394.

Introducción a Bioquímica Clínica Veterinaria
terminó de imprimirse en el mes octubre de 2019
en los talleres de CMYK Diseño e Impresos S.A.S.
en Bogotá, Colombia