

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN CANES (Hospital Universitario de Veterinaria)¹

Pin, G.L.²; Guzmán, C. J.³

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U. A. G. R. M.

I. RESUMEN.

En el presente trabajo de investigación sobre determinación de los niveles de fosfatasa alcalina sérica en muestras de 130 canes llegados al laboratorio clínico veterinario del Hospital Universitario de Veterinaria (H.U.V) mediante el método enzimático colorimétrico. Se obtuvieron los siguientes resultados. en general se encontro un rango de 12 a 1.933 UI/l de fosfatasa alcalina (FA). De acuerdo a la edad, hasta 3 meses 15 muestras (0,77 %) se encontraban dentro del rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 3,85 % de los casos en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 6,15% de los casos, en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A.; el 0,77% de los casos, con un rango mayor a 646 UI/l de F.A. De 3 a 6 meses 10 muestras; el 1,54 % con el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 3,07 % en el rango de 161 a 322UI/l de F.A.; el 3,07% en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A. De 6 a 12 meses, 17 muestras (3,85%) en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 4,62% en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 3,85 % en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A.; el 0,77 % con valores mayores a 646 UI/l de F.A. De 12 a 24 meses, 20 muestras (9,23 %) dentro del rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 2,31 % en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 1,54% en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A.; el 2,31 % con valor mayor a 646UI/l de F.A.; en perros mayores de 24 meses, 68 muestras (26,92 %) en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 11,53% en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 6,15 % en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A. y el 7,7 % con valores mayores a 646 UI/l de F.A. siendo $P < 0,05$. Los valores promedios generales de F.A. de acuerdo a la edad en 130 canes, fueron: hasta tres meses de edad 15 muestras en el rango de 133 a 861 UI/l de F.A. y una media de 408, 80 UI/l de F.A.; 3 a 6 meses de edad 10 muestras, en un rango de 78 a 584 UI/l de F.A. y una media de 293, 10 UI/l de F.A.; de 6 a 12 meses 19 canes, con un rango de 105 a 744 UI/l de F.A. y una media de 278, 76 UI/l de F.A.; de 12 a 24 meses en el rango de 42 a 885 UI/l de F.A. tuvieron un valor medio de 242, 75 UI/l de F.A.; en perros mayores a 24 meses en el rango de 12 a 1.933 UI/l de F.A. y una media de 346 , 95 UI/l de F.A. Según el sexo 59 hembras muestreadas corresponden al 45 , 38 % de la población , 18,46 % de los casos en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A., El 13,85 % en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 8,46 % en el rango de 323 a 646 UI/l. de F.A. y el 4,61 % con valores mayores a 646 UI/l de F.A. En 71 animales machos muestreados igual al 54, 62 % de la población total, el 23,85 % estuvieron en el rango de 20 a 160 UI/l. de F.A. el 12,31 % en el rango de 161 a 322 UI/l. de F.A. el 11,54 % en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A. y el 6,92 % con valores superiores a 646 UI/l. de F.A., siendo $P > 0,05$. De 78 casos que se seleccionaron para tener valores de referencia para nuestro medio presentaron los siguientes valores: hasta 3 meses en el rango de 133 a 519 UI/l de F.A. De 3 a 6 meses de 78 a 432 UI/l de F.A. , de 6 a 12 meses de 105 a 207 UI/l de F.A. de 12 a 24 meses de 42 a 138 UI/l de F.A. y mayor a 24 meses con el rango de 12 a 207 UI/l de F.A.

1 Tesis de Grado presentado por Pin, Gorriti Leda, para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M.

2 Av. Brasil, calle Rió de Janeiro No 2210, Tel. 3483492.

3 Profesor de Laboratorio Clínico Veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Director del Laboratorio Clínico, Hospital Universitario de Veterinaria, U.A.G.R.M. Santa Cruz - Bolivia.

II. INTRODUCCIÓN.

Las medidas de valores químicos de varios constituyentes de la sangre es otro de los aspectos dirigidos al diagnóstico más completo de las enfermedades. Estos análisis, sobre todo si van junto con otros procedimientos de investigación, como el examen físico y los antecedentes del animal enfermo, pueden ser de extremo valor para el veterinario, en sus criterios de diagnóstico y pronóstico, así como para ponderar los resultados del tratamiento.

Por supuesto, los exámenes químicos de la sangre no deben ser exigidos sin motivo, ni mucho menos intentar sustituirlos al examen clínico cuidadoso. Las respuestas de los mencionados análisis serán solo de valor si se acompañan del examen personal del paciente y si el veterinario se halla en condiciones de saber interpretar los resultados; en efecto, el clínico debe tener completo conocimiento de los valores de referencia con respecto a la especie del animal, su edad y sexo, a la vez, debe estar enterado de las variaciones propias de cada estado patológico.

El veterinario práctico debe tener instrucción sobre las particularidades de la técnica y del grado de precisión de cada una de las determinaciones, con lo cual se acercará a la más correcta evaluación de las respuestas que le dé el laboratorio.

Nuestro estudio sobre los valores de fosfatasa alcalina es un aporte valioso para que los veterinarios dedicados a la clínica de canes tengan en cuenta que un gran porcentaje de ellos (40 %) pueden tener alteraciones óseas o colestasis

por los niveles elevados de fosfatasa alcalina detectada y también él poder proveerles de valores de referencia para nuestro medio de esta enzima.

Por tanto, los objetivos de la presente investigación son: a) Determinar los niveles séricos de fosfatasa alcalina de muestras de canes llegados al Laboratorio Clínico Veterinario del Hospital Universitario de Veterinaria de la F.M.V.Z - U.A.G.R.M.; b) Relacionar los valores de fosfatasa alcalina con las variables edad y sexo, y c) Proveer rangos de referencia de fosfatasa alcalina para nuestro medio.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

3.1. Generalidades.

En todo ser vivo se producen constantemente innumerables reacciones químicas. Muchas de ellas tienden a transformar las sustancias introducidas con los alimentos a fin de obtener energía y materia prima para la síntesis de nuevas estructuras moleculares. Dicha síntesis, así como la degradación a que son sometidos los propios componentes celulares una vez cumplida su vida útil, son también el resultado de múltiples reacciones. La velocidad y eficiencia con las cuales se realizan las transformaciones bioquímicas son notables. Si se pretendiese repetir las en el laboratorio, se comprobaría que solo ocurren si se suministra calor o pH extremos, o grandes presiones, etc., recursos todos incompatibles con la subsistencia de las células (Lehninger, 1.980).

En las condiciones reinantes en el organismo: temperatura alrededor de 37 °C en seres homeotermos, temperatura ambiente en poiquilotermos, pH próximo a la neutralidad, presión constante, etc., la mayor parte de las reacciones transcurrirían muy lentamente o no se producirían en absoluto. Las reacciones químicas se realizan en los seres vivientes a gran velocidad, en condiciones muy moderadas de temperatura, pH, presión, etc., gracias a la existencia de catalizadores. Un catalizador es un agente capaz de acelerar una reacción química, sin formar parte de los productos finales ni desgastarse en el proceso. En los medios biológicos se desempeñan como catalizadores un grupo numeroso y variado de sustancias denominadas enzimas (Blanco, 1.992).

Como todo catalizador, las enzimas actúan disminuyendo la energía de activación (E_a) de una reacción. En este sentido, son más efectivas que la mayoría de catalizadores inorgánicos. Por otra parte, las enzimas muestran mucha mayor especificidad. Un catalizador inorgánico suele actuar acelerando reacciones químicas muy diversas, mientras que una enzima solo cataliza una reacción química determinada. Hay enzimas que pueden actuar sobre sustancias distintas, pero se trata en todos los casos de compuestos homólogos y la reacción catalizada es siempre del mismo tipo. Las sustancias sobre las cuales actúan las enzimas reciben el nombre genérico de sustratos (Lehninger, 1.980).

3.1.1. Nomenclatura y clasificación de las enzimas.

Las enzimas se designan agregando el sufijo *asa* al nombre del sustrato (ureasa, tirosinasa) o del tipo de reacción catalizada (dehidrogenasa, decarboxilasa); hay algunas que tienen nombres arbitrarios (pepsina, tripsina). Existe un sistema de clasificación que asigna a cada enzima un nombre y un número que permite ubicarla. Se las agrupa en seis categorías según el tipo de reacción catalizada: 1.oxidorreductasas; 2.transferasas; 3.hidrolasas; 4.liasas; 5.isomerasas, y 6.ligasas (Blanco, 1.992).

3.1.2. Naturaleza química de las enzimas.

La inmensa mayoría de enzimas son proteínas. Se han descubierto moléculas de ARN que poseen actividad catalítica. Algunas enzimas son proteínas

simples y otras proteínas conjugadas, que sólo cumplen su acción catalítica si están asociadas con otra molécula no proteica de tamaño pequeño, llamada coenzima. La porción proteínica de la enzima es la apoenzima y junto con la coenzima forman la holoenzima. La apoenzima es responsable de la especificidad de sustrato. Muchas de las coenzimas están relacionadas con las vitaminas (Blanco, 1.992).

3.1.3. Catálisis enzimática.

Las enzimas aumentan la velocidad de la reacción que catalizan disminuyendo la energía de activación de los reactivos. Durante el curso de la reacción, la enzima se une al o a los sustratos formando un complejo enzima sustrato transitorio. Al final de la reacción se forman productos y la enzima aparece inalterada y puede unirse nuevamente a otra molécula de sustrato. La misma molécula de enzima es reutilizada muchísimas veces (Lehninger, 1.980).

3.1.4. Sitio activo.

Para formar el complejo enzima sustrato, el sustrato se fija en un lugar definido de la molécula de enzima llamado sitio activo. Existe complementariedad estructural entre Enzima y Sustrato, lo cual permite un exacto encaje recíproco. En realidad, hay una adaptación o ajuste inducido, pues la enzima se amolda al sustrato después de la unión de ambos. La conformación de la enzima, particularmente de su sitio activo, y la presencia en este de ciertos grupos funcionales de las cadenas laterales de restos aminoacídicos, aseguran

la adecuada fijación del sustrato. Alteraciones que afecten restos esenciales, ya sea en el sitio activo o en posiciones críticas para el mantenimiento de su configuración, pueden alterar la actividad. Esto suele suceder a causas de defectos genéticos que conducen a la síntesis de enzimas anormales (Martín, 1.984).

3.1.5. Distribución intracelular de las enzimas.

Hay enzimas que cumplen su función fuera de las células, pero la mayoría son intracelulares y están dispuestas en distintos compartimientos según su función. En algunos casos forman complejos organizados, formados por varias enzimas que poseen acciones complementarias (sistema multienzimáticos) (Lehninger, 1.980).

3.1.6. Determinación de la actividad enzimática.

La actividad de una enzima se determina midiendo la cantidad de producto formado, o de sustrato consumido, en un tiempo dado. Interesa medir la velocidad inicial, esto es, aquella medida mientras la cantidad de sustrato consumido es todavía insignificante en relación con el total presente en la mezcla. Se considera velocidad inicial cuando la determinación es efectuada antes que el consumo de sustrato alcance al 20% del total originalmente presente (www.abcmedicus.com/clinicoenzimas.html).

Una unidad internacional de enzima es la cantidad que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto, bajo condiciones definidas de pH, temperatura, etc. La *Actividad específica* expresa las unidades de enzima existentes por cada miligramo de proteína presente en la muestra. *Actividad molar o número de recambio* es el número de moléculas de sustrato convertidas en producto en la unidad de tiempo por una molécula de enzima, en condiciones de saturación de sustrato (Blanco, 1.992).

3.1.6. Factores que modifican la actividad enzimática.

La velocidad de una reacción catalizada es directamente proporcional a la cantidad de enzima presente. Si la determinación de actividad se realiza manteniendo constantes la concentración de enzima y las otras condiciones de reacción, excepto la concentración de sustrato, se observa que a bajos sustrato la actividad aumenta rápidamente con los incrementos de sustrato, pero a niveles más elevados, el incremento de velocidad se va haciendo mas lento y tiende a alcanzar una máximo del cual no pasa por mas que se aumente sustrato. K_m es la concentración de sustrato con la cual la velocidad de reacción alcanza un valor igual a la mitad de la máxima. En condiciones definidas de medio, pH, temperatura, etc. la K_m tiene un valor fijo para cada enzima y sirve para caracterizarla. En la mayoría de las enzimas, el valor de K_m guarda relación inversa con la afinidad de la enzima por el sustrato: a mayor afinidad, menor valor de K_m . (Lehninger, 1.980).

El aumento de temperatura incrementa la actividad enzimática hasta un valor máximo que corresponde a la temperatura óptima. Por encima de ésta la

actividad cae rápidamente. Para la mayoría de enzimas de animales, la temperatura óptima oscila alrededor de 37°C. El efecto inactivante de temperaturas superiores a 40° C se explica principalmente por la desnaturalización producida por el calor sobre la estructura proteica. El pH del medio modifica la actividad enzimática. Hay un pH óptimo, y por debajo o por encima de éste, la velocidad de reacción cae notablemente. Esto se explica por la acción del pH sobre el estado de ionización de grupos funcionales en la molécula de enzima y en la de sustrato. El pH óptimo es aquel en el cual los grupos esenciales poseen la carga necesaria para asegurar la formación del complejo enzima sustrato. Además, a pH extremos se produce desnaturalización de la proteína (Blanco, 1.992).

3.1.7. Inhibidores enzimáticos.

Existen sustancias que inhiben la actividad enzimática. Hay inhibidores irreversibles y reversibles. Entre éstos se cuentan los competitivos, los no competitivos y los anticompetitivos. Los inhibidores competitivos aumentan el valor de la Km. pero no modifican la velocidad máxima de la enzima. Su acción es revertida aumentando la sustrato. Algunos presentan similitud estructural con el sustrato y compiten con éste por ocupar el sitio activo. Los inhibidores no competitivos se unen a la enzima en un lugar diferente al sitio activo y provocan disminución de la velocidad máxima sin modificar la Km. No puede ser revertida por aumento de sustrato (Lehninger, 1.980).

3.1.8. Regulación de la actividad enzimática.

La actividad de las enzimas es ajustada a los requerimientos fisiológicos por diversos mecanismos. Las sustrato en las células están por debajo o próximas

al valor de K_m de las enzimas respectivas. En esos niveles, los cambios en la concentración de sustrato producen significativos cambios en la actividad de la enzima (la actividad es proporcional a sustrato). Es común que en una vía metabólica la enzima que cataliza la primera etapa es reguladora. (Lehninger, 1980).

3.2. Definición de isozimas.

En un organismo, y aun en una célula, pueden existir distintas proteínas que presentan la misma actividad enzimática. Esas diferentes formas moleculares de una enzima se denominan isoenzimas o isozimas (Blanco, 1.992).

3.2.1. Determinación enzimática en laboratorio clínico.

El laboratorio clínico utiliza a menudo la determinación de enzimas con fines diagnósticos. Es común la medición de actividad enzimática en el suero o el plasma sanguíneo. Las enzimas intracelulares aparecen en el plasma cuando una alteración de la membrana de las células de origen permite su pasaje al espacio intersticial. La presencia en el plasma de enzimas propias de un tejido ayuda a establecer cuál es el órgano dañado. La determinación de enzimas en biopsias de tejidos es útil en el diagnóstico de defectos genéticos (Blanco, 1.992).

3.2.2. Definición de fosfatasa alcalina.

La fosfatasa alcalina (F.A.) formalmente es llamada *monoester fosfohidrolasa ortofosfórica*. Esta enzima hidroliza los fosfatos orgánicos en fosfato inorgánico y la fracción orgánica. Su pH óptimo es cercano a 9,5. Es una enzima muy estable y puede ser congelada con poca o ninguna pérdida de actividad. Se halla en gran cantidad en el hígado riñón, bazo, mucosa intestinal y hueso. Su vida media en el suero es larga (72 horas en el perro). El Peso Molecular, varía con la fuente tisular de la enzima. Pertenece a la clase química hidrolasa, que es una enzima, proteína (Medway y Col. 1.990).

3.2.3. Isoenzimas de la fosfatasa alcalina.

La fosfatasa alcalina tiene una gran variedad de isoenzimas con leves diferencias en su estructura que sugieren diferentes orígenes por cada tejido (hígado, hueso, bazo, riñón, intestino y placenta). No obstante, en las situaciones clínicas sólo las isoenzimas halladas en el hígado y hueso son importantes. Esto es porque las vidas medias séricas de las otras isoenzimas son apenas de 3 a 6 minutos, mientras que para la isoenzima hepática es de 3 días en el perro. Sumada a la isoenzima inducida por la obstrucción biliar, la fosfatasa alcalina tiene la isoenzima inducida por los esteroides. Esta hiperactividad puede durar varias semanas con las formulaciones de acción corta y durante varios meses con las de acción larga. La magnitud del incremento depende de la dosis administrada, duración, ruta y sensibilidad individual (Tilley y Col., 2.003).

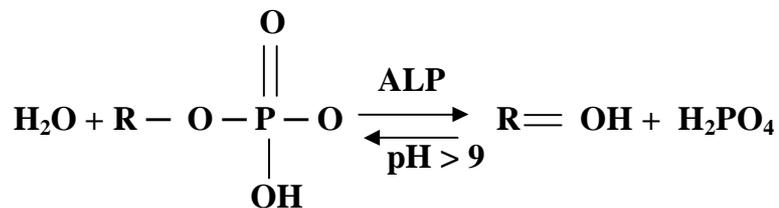
Las isoenzimas de cada uno de estos orígenes se han distinguido entre sí por el análisis electroforético, por la inhibición diferencial por sustancias químicas y calor y por inmunológica, aunque también hay diferencias en la dependencia del sustrato y en las reacciones cinéticas (Bernard, 1.988).

3.2.4. Origen de la fosfatasa alcalina.

Esta enzima ha sido identificada en la mayor parte de los tejidos del organismo y se localiza usualmente en las membranas celulares. El origen químico no se conoce, sólo el origen tisular (osteoblastos, mucosa intestinal, placenta, células tubulares del riñón, epitelio de las vías biliares, hígado, leucocitos y eritrocitos) (Medway y Col. 1.990).

3.2.5. Reacción bioquímica.

Las fosfatasas transfieren un fosfato de un grupo a otro, formando un alcohol y un nuevo compuesto fosfatado. Cuando el aceptor del fosfato es el agua, se forma un fosfato inorgánico. Estas enzimas exhiben una actividad óptima a un pH de aproximadamente 10,0. La fosfatasa alcalina requiere Mg^{+} para su activación y es inhibida por el Ca^{++} , y el fosfato inorgánico.



Las velocidades de reacción dependen notablemente de variables tales como la fuente tisular de la enzima, el tipo de sustrato y buffer que se emplea y la temperatura de incubación. La fosfatasa alcalina se desnaturaliza lentamente a 37°C, por lo que a menudo se recomienda una temperatura de 25°C a 37°C para los ensayos clínicos. El tipo de buffer utilizado para aumentar la actividad enzimática actuando como aceptor del grupo fosfato en un proceso denominado “transfosforilación”. Son ejemplos de buffers transfosforilantes el 2-metil-2-amino-1-propanol (MAP), la dietanolamina (DEA) y el Tris. Dado que no se conocen los sustratos naturales de estas enzimas, los ensayos actuales ampliamente utilizados para determinar la actividad de la fosfatasa alcalina emplean como sustrato el *p*-nitrofenilfosfato (pNPP). A pH alcalino, el pNPP es incoloro, mientras que el producto de reacción, el *p*-nitrofenol (pNP), es intensamente amarillo (Kaplan-Pesce, 1.986).

3.2.6. Metabolismo.

Esta enzima hidroliza ésteres monofosfóricos liberando fosfato inorgánico. Algunos autores mencionan que la función metabólica de dicha hidrólisis todavía es desconocida. No se conoce la causa del aumento en el suero de la ictericia obstructiva en el hombre y en enfermedades

hepatocelulares del perro. El aumento puede ser debido a la falta de excreción en la bilis (teoría de la retención), a la producción hepática aumentada, a la mayor producción de la enzima por los huesos, cuando la esteatorrea de ictericia obstructiva interfiere en la absorción de calcio y vitamina D, o a la activación de la enzima en el suero. Parece que la teoría de la retención es más probable. Un trabajo anterior demostró que en casos de enfermedad hepática en el perro hay correlación entre la FAS y la bilirrubina. La eliminación se da en forma natural por el hígado (Medway y Col, 1.990).

3.2.7. Utilidad clínica.

Tiene dos aplicaciones clínicas muy útiles: en enfermedad obstructiva hepática y en enfermedad metabólica ósea, asociada a incremento de la actividad osteoblástica. En la significación clínica las indicaciones comunes del uso de la fosfatasa alcalina son: en la enfermedad sistémica con pérdida ponderal, hepatomegalia, vómito, diarrea, ascitis, ictericia, depresión o anorexia; también como método selectivo para hepatopatía e hiperadrenocorticismos. Ventajas: utilidad en la evaluación del hígado por enfermedad colestásica sutil. Desventajas: efecto de los corticosteroides, lesiones óseas y actividad FA en los animales jóvenes (Willard y Col, 1.993).

3.2.8. Valores de referencia.

Los valores de referencia son los rangos dentro del cual se encuentran los valores de una variable en la mayoría (95 %) de los individuos de una población clínicamente sana, al ser determinados mediante una metodología definida (Kraft y Durr, 2.000).

En los valores de fosfatasa alcalina siempre hay que tener en cuenta que pueden variar tanto por la metodología de análisis utilizado como por otros factores fisiológicos como puede ser la edad o la preñez en hembras gestantes. Varían bastante entre laboratorios (metodología de análisis). Los perros inmaduros tendrán como características actividades de FA de casi el doble de las medidas en los perros con madurez sexual. En relación a la edad, demuestra que no es posible dar unos “márgenes de referencia” comunes en los que poder basarse para analizar los resultados de un determinado paciente (www.biopsicologia.net/fichas/fic-35-1.html).

Puesto que las diferentes razas de perros alcanzan la edad adulta en momentos muy diferentes, los valores atribuidos a las diferentes edades sólo pueden considerarse como puntos de referencia; en razas de desarrollo precoz, como las razas de pequeño tamaño, los valores correspondientes a animales adultos se alcanzan más temprano, mientras que en las razas grandes se alcanza más tarde; los valores de las razas medianas se sitúan en el medio (Wayne y Col., 1.993).

Tabla 1. Rangos de referencia y dependencia de la edad de canes en UI/l de F.A. y de su equivalencia en nKat/l.

Hasta 3 meses	Hasta 530 UI/l = 8835 nkat/l
De 3 a 6 meses	Hasta 440 UI/l = 7335 nkat/l
De 6 a 12 meses	Hasta 250 UI/l = 4170 nkat/l
De 12 a 24 meses	Hasta 146 UI/l = 2434 nkat/l
De 2 a 8 años	Hasta 100 UI/l = 1667 nkat/l
De 8 a 10 años	Hasta 122 UI/l = 2034 nkat/l
Más de 10 años	Hasta 183 UI/l = 3051 nkat/l

(Kraft y Durr , 2.000).

- Unidad SI: X 16,67 (nkat/l)
- Unidad Convencional: X 0,05999 (UI/l)

Debido a la falta de correlación con la función hepática no hay valores peligrosos para la fosfatasa alcalina y que valores disminuidos pueden darse por la presencia de fluoruro, oxalato, fosfato, arseniato, zinc, citrato, manganeso, EDTA, berilio y compuestos sulfhidrilo y una. elevación falsa por la bilirrubina mayor de 8 mg/dl, lipemia marcada, almacenamiento y hemólisis (ligera) (Todd y Col, 1.998).

Cualquier droga que cause inducción enzimática hepática y/o colestasis puede aumentar la fosfatasa alcalina en canes, como los barbitúricos, glucocorticoides, fenobarbital, primidona, producen aumentos de mayor importancia; pero otros fármacos como los esteroides anabólicos, andrógenos, asparaginasa, azotioprina, cefalosporinas, ciclofosfamida, dapsona,

eritromicina (estolato), estrógenos, sales de oro, griseofulvina, halotano, ibuprofeno, 6-mercaptopurina, metimazol, metotrexato, nitrofurantoína, oxacilina, fenotiazinas, fenilbutazona, progesterona, testosterona, tetraciclinas, trimetroprima/sulfametoxazol, vitamina A, oximetolona, fenitoína, quinacrina, quinidina, salicilatos, azufre y otros producen aumentos menos constantes (Willard y Col. 1.993).

3.3. Alteraciones de los valores de fosfatasa alcalina.

Los valores reducidos de fosfatasa alcalina tienen poca importancia, como se puede percibir una ligera disminución en casos de hipotiroidismo. Pero sí son considerados importantes los valores aumentados de fosfatasa alcalina, es así que cuando se trata de la fosfatasa alcalina de origen óseo suele estar aumentada (menos de tres veces el valor normal) en los animales menores de 6 a 8 meses de edad. La osteopatía (por ej., osteosarcoma, u osteomielitis) rara vez produce elevación de la fosfatasa alcalina, pero si lo hace, en general será un aumento mínimo (Sodikoff, 1.996).

Las causas más prevalentes de valores de fosfatasa alcalina mayores de 3 veces lo normal en el perro son la hepatopatía, el hiperadrenocorticismismo y administración de glucocorticoides, anticonvulsivos o barbitúricos. Incrementos más bajos pueden deberse a los mismos motivos y a neoplasia. La hepatopatía con aumento de la fosfatasa alcalina en general tiene un componente colestático; empero, esto no implica ictericia u obstrucción macroscópica del árbol biliar. La colestasis intrahepática

debida a compresión difusa o focal de los canalículos biliares puede ocurrir en diferentes hepatopatías, incluso aquellas secundarias a septicemia, toxemia y hepatopatía vacuolar inducida por estrés crónico (Sonnenwrth, 1.983).

La necrosis hepatocelular aguda puede causar aumentos transitorios de la fosfatasa alcalina (en general menores de 5 veces lo normal). La obstrucción biliar extrahepática y la inducción enzimática debida a adrenopatía o farmacoterapia pueden aumentar la fosfatasa alcalina a más de 10 veces lo normal (Wayne y Col., 1.993).

Aunque, (Birchard y Col., 1.996), indican que la magnitud de elevación de la fosfatasa alcalina no se correlaciona con la intensidad o pronóstico de la enfermedad hepática. Alteraciones biliares: tanto en las alteraciones extrahepáticas (obstrucciones de los conductos biliares; como en alteraciones intrahepáticas, se producen un aumento de la fosfatasa alcalina en sangre debido a su presencia en las células epiteliales de los conductos biliares La fosfatasa alcalina hepática es una enzima producida tanto por los hepatocitos como por las células epiteliales del conducto biliar y que durante la colestasis penetra en el suero en cantidades muy apreciables, hasta elevar su actividad 30 veces sobre sus valores normales. Si embargo, la actividad sérica de la fosfatasa alcalina también puede incrementarse como consecuencia de la liberación de isoenzimas provenientes de otras fuentes (por ej., Huesos, placenta, neoplasias) de modo que por sí sola, esta elevación no debe tomarse como indicadora de una colestasis.

En relación a las alteraciones hepáticas, por su presencia en los hepatocitos, aunque su aumento sería menor, pero lo cierto es que se solaparía con las alteraciones biliares. La hepatitis infecciosa canina, provoca aumento marcado en los niveles de fosfatasa alcalina por alteración en el drenaje intrahepático. El adenocarcinoma del páncreas debido a la obstrucción producida en los conductos biliares extrahepáticos, con aumento moderado. En las aflatoxicosis se altera el drenaje biliar intrahepático, produciendo aumento moderado; En la hepatopatía aguda por alteración en el drenaje intrahepático produce un aumento moderado. En la hepatopatía crónica (cirrosis) por obstrucción parcial intrahepática produce aumento marcado. En el síndrome de cushing (hipercorticalismo), por la infiltración grasa en el hígado, produciéndose dificultad en el drenaje intrahepático. En el hipotiroidismo, por infiltración grasa hepática, alterando el drenaje intrahepático. En la leptospirosis, por dificultad en el drenaje biliar intrahepático. En la parvovirus, por dificultad en el drenaje biliar intrahepático (www.diagnosticoveterinario.com, 2.002).

Aunque, otros autores indican que, las intoxicaciones por hepatotoxinas producen un aumento importante de la fosfatasa alcalina. En casos de diabetes mellitus también se produce elevación de la fosfatasa alcalina. Alteraciones óseas: debido a su presencia en la membrana plasmática de los osteoblastos, aumentaría en los procesos en los cuales esté incrementada la remodelación ósea. Las alteraciones óseas son por aumento de la actividad osteoblásticas, por remodelación o reabsorción ósea (Kraft y Durr, 2.000).

En el hiperparatiroidismo primario, debido a la reabsorción ósea producida, hay un aumento marcado. En el hiperparatiroidismo secundario (renal), por aumento de la actividad osteoblástica con un aumento moderado. En los linfomas, por aumento de la actividad osteoblástica. En el mieloma múltiple, debido a la invasión de la médula ósea al tejido óseo, produciéndose una mayor absorción ósea. En el raquitismo – osteomalacia, debido al aumento de la actividad osteoblástica (www.diagnosticoveterinario.com, 2.002).

En el perro es de importancia excluir la edad (juventud) en primer lugar, farmacoterapia e hiperadrenocorticismos para no realizar un muestreo hepático innecesario. El hiperadrenocorticismos puede ser fácilmente confundido con la hepatopatía primaria, porque típicamente induce hepatomegalia, poliuria/polidipsia, aumento de ALT, prolongada retención de BSF y aumento de los ácidos biliares séricos. A menos que el paciente exhiba signos de insuficiencia hepática, ictericia, hepatoencefalopatía, hipoglucemia, pérdida de peso, vómito, hipoalbuminemia, ascitis o microhepatía, el hiperadrenocorticismos debe ser descartado mediante pruebas de función adrenal (Todd y Col., 1.998).

Si una biopsia hepática es llevada a cabo en un paciente hiperadrenal, se observará una hepatopatía vacuolar. En ocasiones, las pruebas de función adrenal (por ej., estimulación con ACTH o supresión con dexametasona) darán resultados ambiguos. En tales casos se deben medir las isoenzimas de la fosfatasa alcalina para diferenciar entre colestasis e inducción por glucocorticoides (Willard y Col. 1.993).

3.4. Fundamentos del método.

El fundamento del método consiste en que la fosfatasa alcalina desdobla al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-amino-antipirina ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm (Wiener lab., 2.000).

3.4.1. Reactivos de laboratorio.

Están compuestos por:

- **Buffer:** 4-aminoantipirina 29 mmol/l en solución de aminometil propanol 3mol/pH 10 (a 37°C).
- **NaFF:** Fenilfosfato de sodio, 1,4 mmoles.
- **Reactivo de Color:** Ferricianuro de potasio, 10 mmol/l.
- **Standard:** Solución de fenol equivalente a 200UI/l. (Wiener lab., 2.000).

3.4.2. Técnica.

Sustrato; preparación: transferir el contenido del frasco de NaFF volcándolo directamente en el frasco de buffer y mezclándolo hasta disolución completa (concentración final 14 mM). Anotar en el rótulo la fecha de preparación.

Reactivo de Color; preparación: disolver el contenido del envase en 500ml de agua destilada. Rotular y colocar fecha de preparación.

Standard: listo para usar. (Wiener lab., 2.000).

3.4.3. Condiciones de reacción.

- Longitud de onda: 520 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500 a 550 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción 10 minutos
- Volumen de muestra: 50 ul
- Volumen final de reacción: 3,05 ml. (Wiener lab., 2.000).

3.4.4. Procedimiento.

En tres tubos de fotocolorímetro marcados con B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Sustrato	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Preincubar en baño de agua a 37° C unos minutos. Luego agregar:

Suero	-	-	50 ul
Standard	-	50 ul	-

Mezclar, incubar exactamente 10 minutos (cronómetro) y agregar:

Reactivo de Color	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
--------------------------	--------	--------	--------

Mezclar de inmediato cada tubo. Retirar los tubos del baño y leer en espectrofotómetro a 520 nm o en fotocolorímetro con filtro verde, llevando el aparato a cero de absorbancia con agua destilada (Wiener lab., 2.000).

3.4.5. Estabilidad de la mezcla de reacción final.

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

3.4.6. Cálculo de los resultados.

Fosfatasa alcalina (UI/l) = factor X (D – B)

Donde: factor = $\frac{200 \text{ UI/l}}{(S - B)}$

(Wiener lab., 2.000).

IV. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1. Material.

4.1.1. Localización del área de trabajo.

El presente trabajo se llevo a cabo en Laboratorio Clínico del Hospital Universitario de Veterinaria de la U.A.G.R.M., en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, capital de la provincia Andrés Ibáñez del departamento de Santa Cruz, ubicada a 47° 45` de Latitud Sur y 65° 10` de Longitud Oeste, con una precipitación pluvial de 1.200 mm al año y una humedad relativa aproximada de 72 % , temperatura media de 23,5° C y una altitud de 416 msnm (Martínez, 1.985).

4.1.2. Unidad muestral.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la fórmula para la estimación de una media con el 95% de confianza; con el cual se determinó que el tamaño de la muestra debería ser como mínimo de 96 animales, utilizándose 130 muestras sanguíneas de canes llegados al Laboratorio Clínico del Hospital Universitario de Veterinaria.

Estas muestras fueron clasificadas en dos grupos de acuerdo a la edad y sexo.

4.1.3. Materiales utilizados.

- Reactivo para fosfatasa alcalina optimizada (Wiener lab.)
- Suero sanguíneo de canes
- Jeringas descartables
- Algodón
- Alcohol
- Fotocolorímetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de ensayo
- Centrífuga
- Probeta
- Baño de agua a 37°C
- Reloj alarma
- Agua destilada

4.2. Métodos.

4.2.1. Método de campo.

En el Laboratorio clínico recibieron muestras de sangre de canes procedentes del Hospital Universitario de Veterinaria y de clínicas veterinarias particulares, se tomaron datos de cada paciente como ser: sexo, raza y edad; se obtuvieron las muestras de sangre de la vena cefálica, en la cantidad de 3 cc, para luego ser procesados en el laboratorio.

4.2.2. Método de laboratorio.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio Clínico Veterinario, de los 3 cc de sangre se obtuvieron el suero sanguíneo mediante centrifugación. El método utilizado fue el enzimático colorimétrico, utilizando un fotocolorímetro con filtro 2. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

4.2.3. Método estadístico.

Los resultados fueron sometidos a pruebas estadísticas de tendencia central, dispersión y análisis de varianza.

V. RESULTADOS.

El presente trabajo de investigación referente a la determinación de los niveles de fosfatasa alcalina sérica en canes, mediante el método enzimático colorimétrico, realizado en 130 muestras sanguíneas, en el periodo de abril a junio de 2.004, presentando los siguientes resultados:

En general los rangos de valores de fosfatasa alcalina (F.A.) estuvieron entre 12 a 1993 UI/l. El 42,31% de los casos (55 muestras) estuvieron en el rango entre 20 a 160 UI/l de F.A. El 25,38% de los casos (33 muestras) estuvieron en el rango entre 161 a 322 UI/l. El 20,77% (27 muestras) en el rango de 323 a 646 y el 11,54% de los casos (15 muestras) con un valor mayor a 646 UI/l de F.A. (Cuadro 1).

De acuerdo a la edad, en canes hasta los 3 meses de edad, de 15 muestras, el 0,77% estuvieron en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 3,85% de los casos en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; 6,15% en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A. y el 0,77% con un rango mayor a 646 UI/l de F.A. Entre las edades de 3 a 6 meses de edad de 10 muestras, el 1,54% de los casos se encontraron entre los valores de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 3,07% entre 161 a 322 UI/l; el 3,07% entre 323 y 646 UI/l. de F.A. De 6 a 12 meses de edad, de 17 muestras; el 3,85% de los casos estuvieron de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 4,62% entre 161 a 322 UI/l de F.A.; el 3,85% entre 323 a 646 UI/l y 0,77% con valor mayor a 646 UI/l de F.A. En el rango de 12 a 24 meses, de 20 muestras, el 9,23% estaban en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 2,31% en el rango de 161 a 322 UI/l de F.A.; el 1,54% en el rango de 323 a 646 UI/l de F.A. y el 2,31% con valor mayor a 646 UI/l. de F.A. En los canes mayores a 24 meses, de un total de 68

muestras, el 26,92% tenían valores entre 20 a 160 UI/l. de F.A; 11,53% con valores entre 161 a 322 UI/l de F.A.; el 6,15% con valores de 323 a 646 UI/l de F.A. y 7,7% con valores mayores a 646 UI/l de F.A. Encontrándose diferencia estadística para esta variable ($P < 0,05$), (Cuadro 2).

Si se toman en cuenta los niveles generales de fosfatasa alcalina de acuerdo a la edad en los 130 canes muestreados se observa que: 15 animales hasta 3 meses de edad con un rango entre 133 a 861 UI/l de F.A. mostraron una media de 408,80 UI/l; de 10 canes de 3 a 6 meses con un rango de 78 a 584 UI/l. F.A., mostraron una media de 293,10 UI/l; de 19 canes de 6 a 12 meses con un rango de 105 a 744 UI/l mostraron una media de 278,76 UI/l, de F.A.; los 20 canes de 12 a 24 meses con un rango de 42 a 885 UI/l de F.A. tuvieron valor medio de 242,75 UI/l; los 68 canes mayores de 24 meses con un rango de 12 a 1933 UI/l de F.A. mostraron una media de 346,95 UI/l de F.A. (Cuadro 3).

Según el sexo, de 59 hembras muestreadas que corresponden al 45,38 % de la población el 18,46% estuvieron en el rango de 20 a 160 UI/l de F.A.; el 13,85% en el rango de 161 a 322 UI/l. de F.A.; el 8,46% en el rango de 323 a 646 UI/l. de F.A. y el 4,61% con valores mayores a 646 UI/l. de F.A. En los machos de 71 animales muestreados, igual al 54,62 % de la población total, el 23,85% estuvieron en el rango de 20 a 160 UI/l. de F.A; el 12,31% en el rango de 161 a 322 UI/l.de F.A.; el 11,54% en el rango de 323 a 646 UI/l. de F.A. y el 6,92% con valores superiores a 646 UI/l de F.A. No encontrándose diferencia estadística significativa de acuerdo a esta variable ($P > 0,05$), (Cuadro 4).

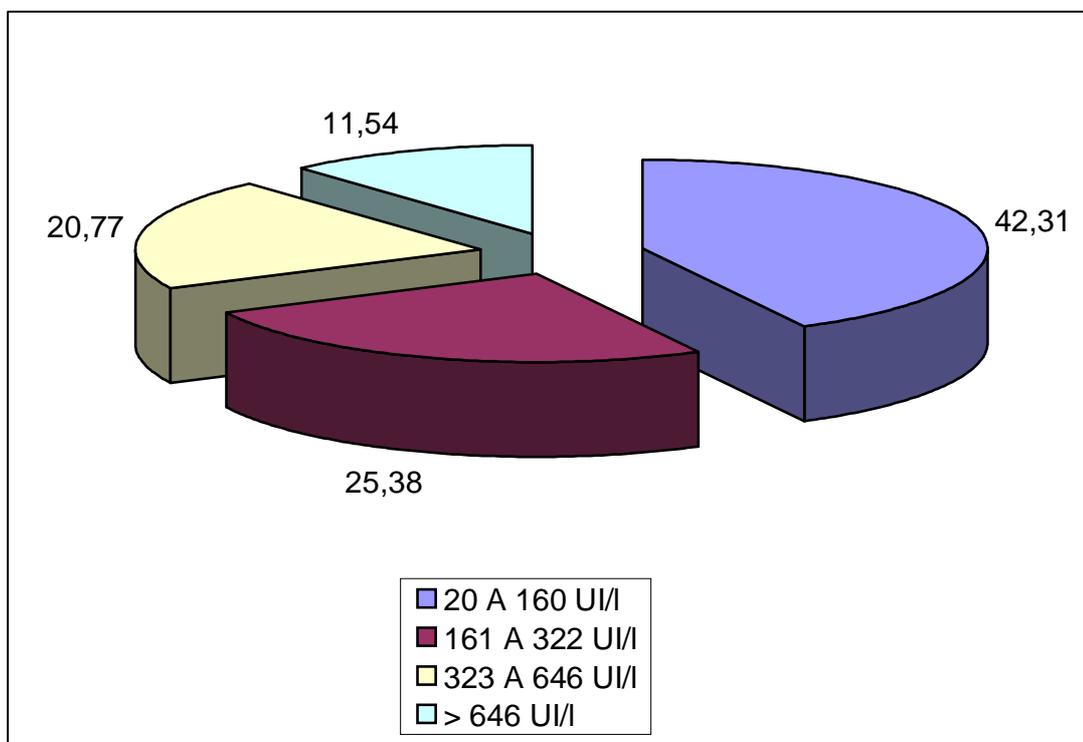
Con el objetivo de tener valores de referencia para nuestro medio, 78 casos se seleccionaron para este objetivo de los 130 animales muestreados, y 52 casos

no se tomarán en cuenta por estar alejados de los de referencia que indica la literatura (Kraft y Durr, 2.000). Los valores de referencia sugeridos para nuestro medio serían los siguientes: Para animales de hasta 3 meses en el rango de 133 a 519 UI/l de F.A.; para el rango de 3 a 6 meses de 78 a 432 UI/l de F.A.; de 6 a 12 meses de 105 a 207 UI/l de F.A.; de 12 a 24 meses de 42 a 138 UI/l de F.A., y mayor a 24 meses de 12 a 207 UI/l de F.A. (Cuadro 5).

**CUADRO 1. NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN 130
CANES ATENDIDOS EN EL H.U.V.
(Abril – Junio de 2.004)**

Niveles de fosfatasa alcalina UI/l	N° de muestras	%
20 – 160	55	42,31
161 – 322	33	25,38
323 – 646	27	20,77
> 646	15	11,54
TOTAL	130	100,00

**GRÁFICO 1. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE FOSFATASA
ALCALINA SERICA EN 130 CANES.**

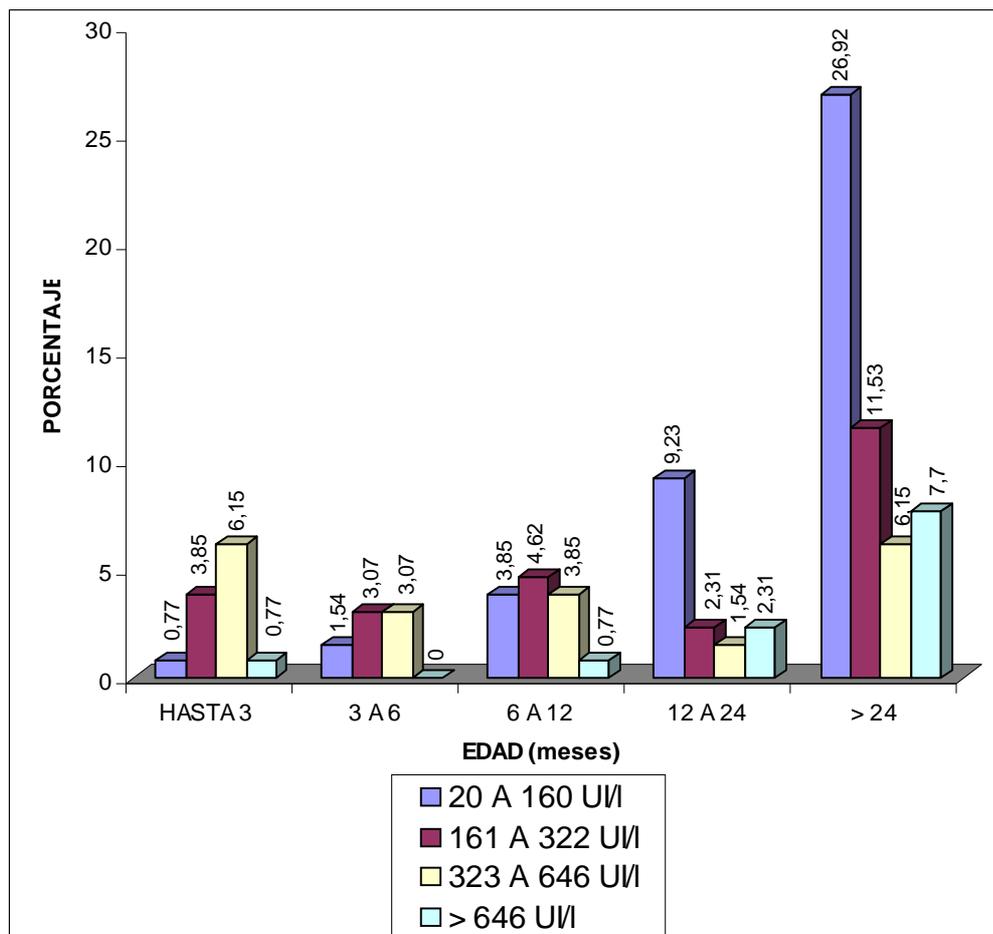


**CUADRO 2. NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN 130
CANES DE ACUERDO A LA EDAD
(Abril - Junio de 2.004)**

		Niveles de fosfatasa alcalina UI/l							
EDAD (meses)	N° Muestras	20 - 160		161 - 322		323 - 646		> 646	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
< 3	15	1	0.77	5	3.85	8	6.15	1	0.77
3 - 6	10	2	1.54	4	3.07	4	3.07	-	-
6 - 12	17	5	3.85	6	4.62	5	3.85	1	0.77
12 - 24	20	12	9.23	3	2.31	2	1.54	3	2.31
> 24	68	35	26.92	15	11.53	8	6.15	10	7.7
TOTAL	130	55	42.31	33	25.38	27	20.76	15	11.55

P < 0.05

GRÁFICO 2. NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN 130 CANES TOMANDO EN CUENTA LA EDAD.



**CUADRO 3. PROMEDIOS GENERALES Y RANGOS DE FOSFATASA
ALCALINA DE ACUERDO A LA EDAD EN 130 CANES
(Abril – Junio de 2.004)**

EDAD	Nº Animales	RANGO UI/l	Media	I.C. 95%
< 3 meses	15	133 – 861	408,80	100,12
3 – 6 meses	10	78 – 584	293,10	105,97
6 – 12 meses	19	105 – 744	278,76	83,31
12 – 24 meses	20	42 – 885	242,75	125,27
> 24 meses	68	12 – 1933	346,95	111,32

GRÁFICO 3. PROMEDIOS GENERALES DE NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA UI/l DE ACUERDO A LA EDAD EN 130 CANES.

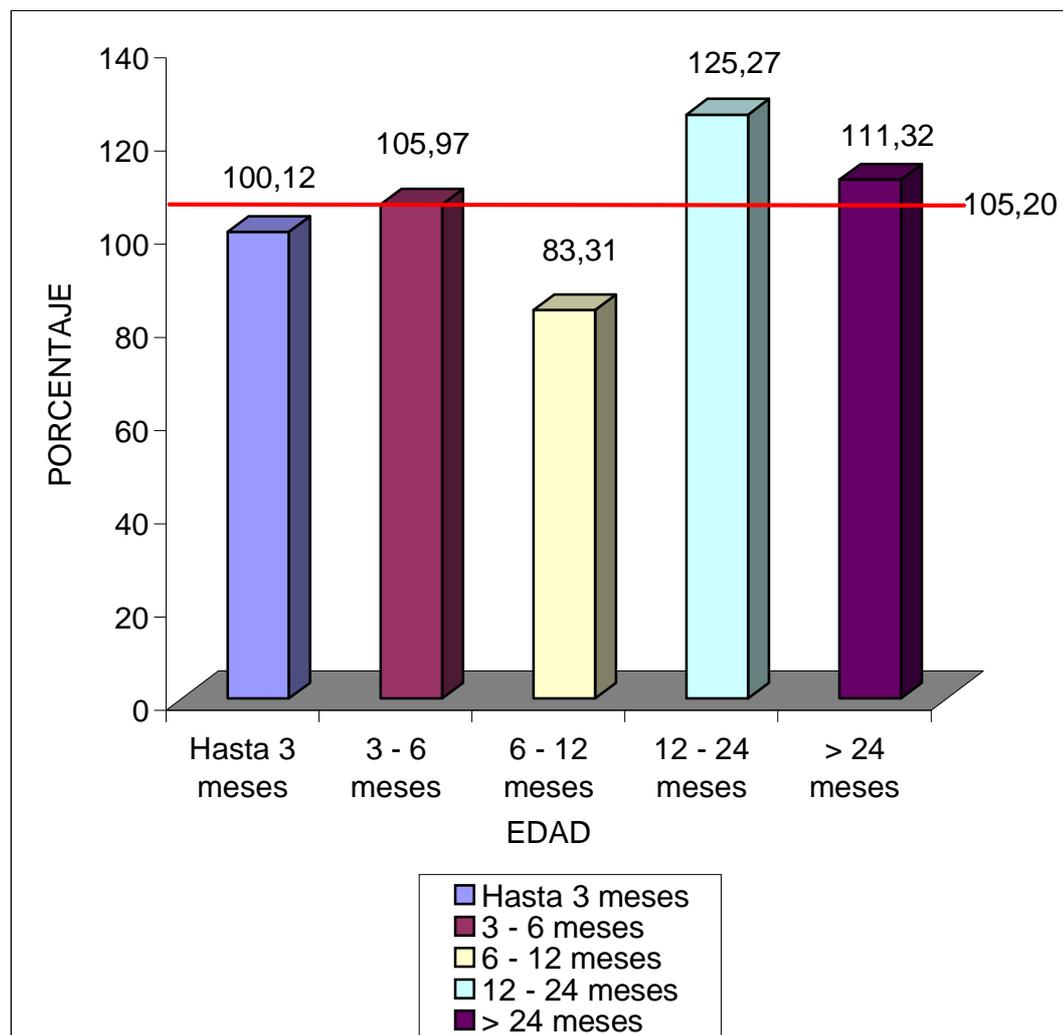
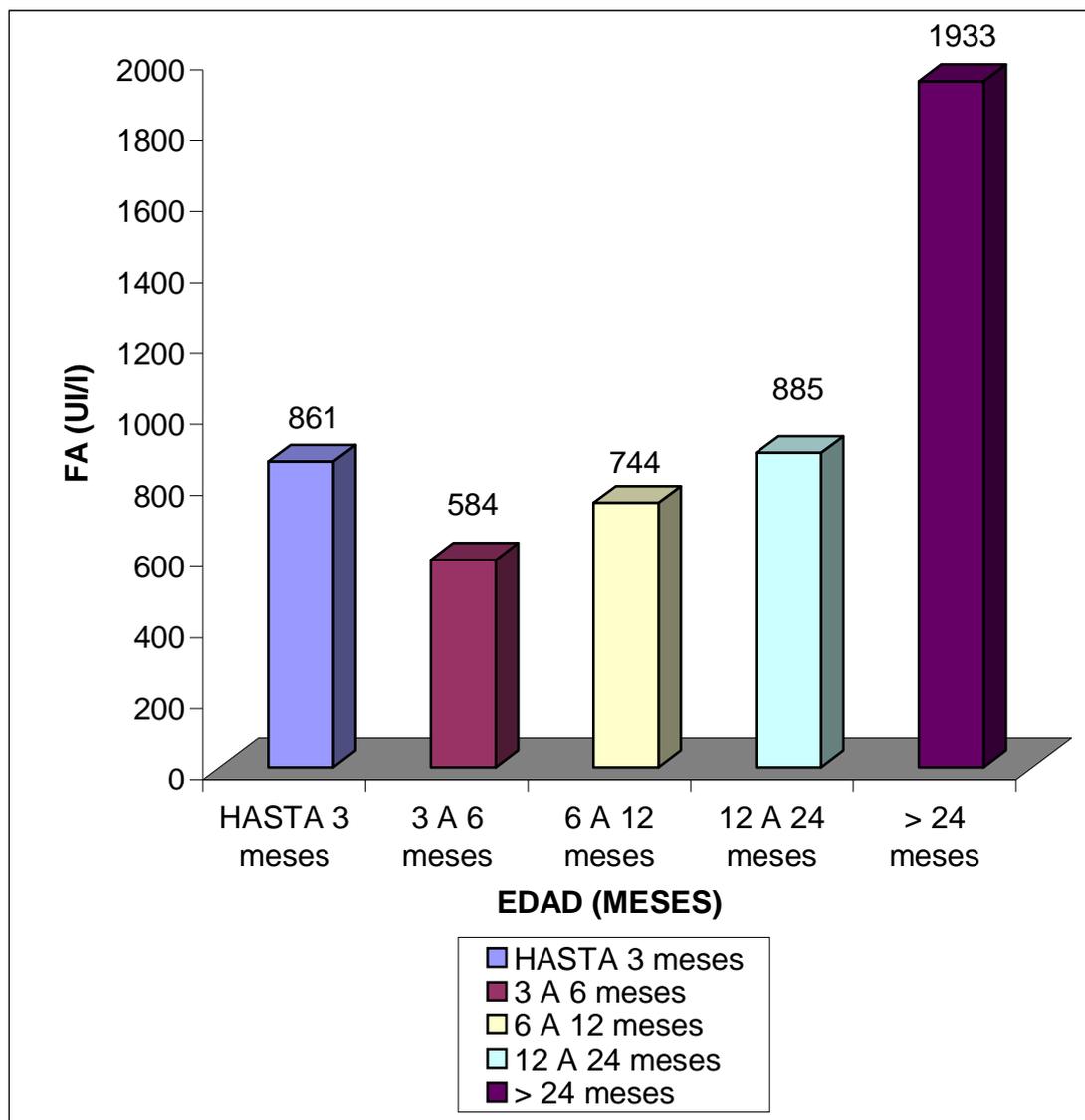


GRÁFICO 4. VALORES MÁXIMOS DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN 130 CANES TOMANDO EN CUENTA LA EDAD.



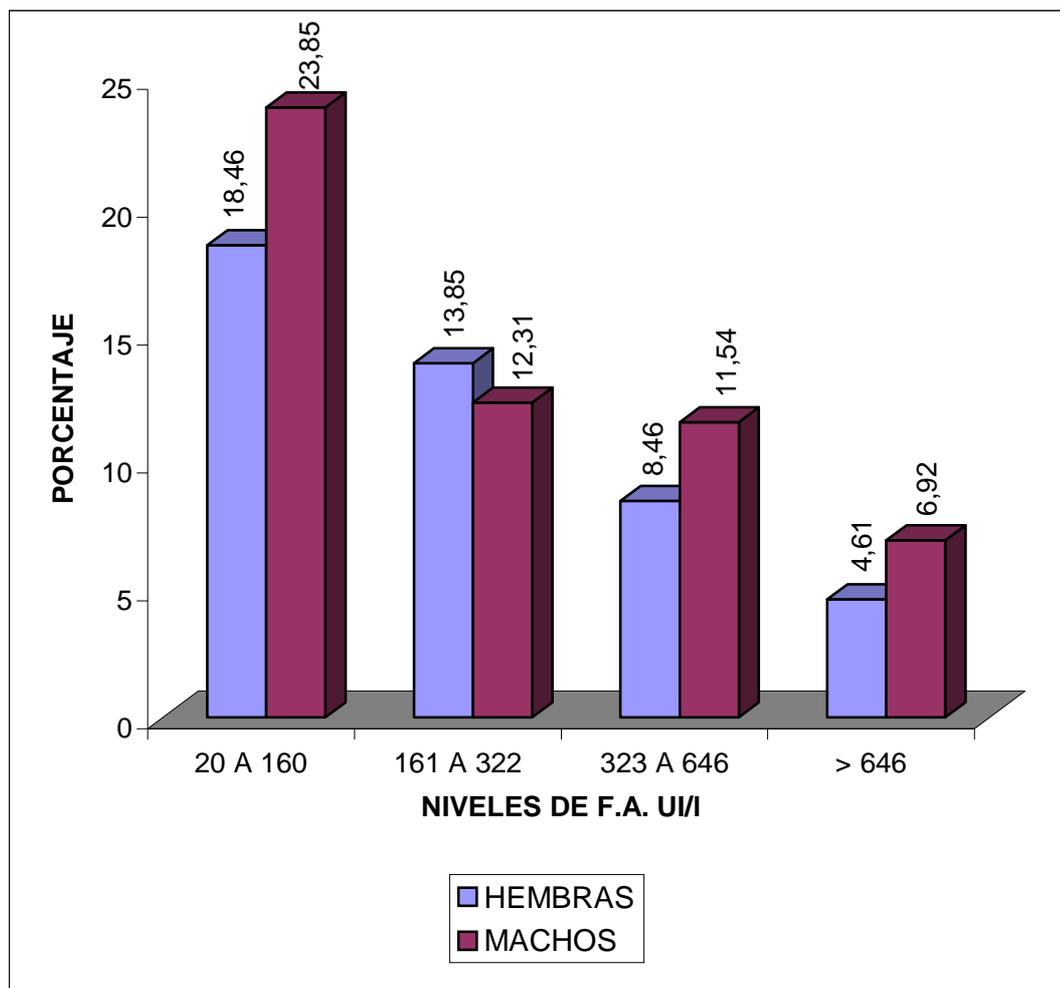
**CUADRO 4. NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA EN 130 CANES DE
ACUERDO AL SEXO ATENDIDOS EN EL H.U.V.**

(Abril - Junio de 2.004)

NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA - UI/l									
SEXO	N° de Muestras	20 - 160		161 - 322		323 - 646		Mayor 646	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Hembras	59	24	18.46	18	13.85	11	8.46	6	4.61
Machos	71	31	23.85	16	12.31	15	11.54	9	6.92
TOTAL	130	55	42.31	34	26.16	26	20	15	11.53

P > 0.05

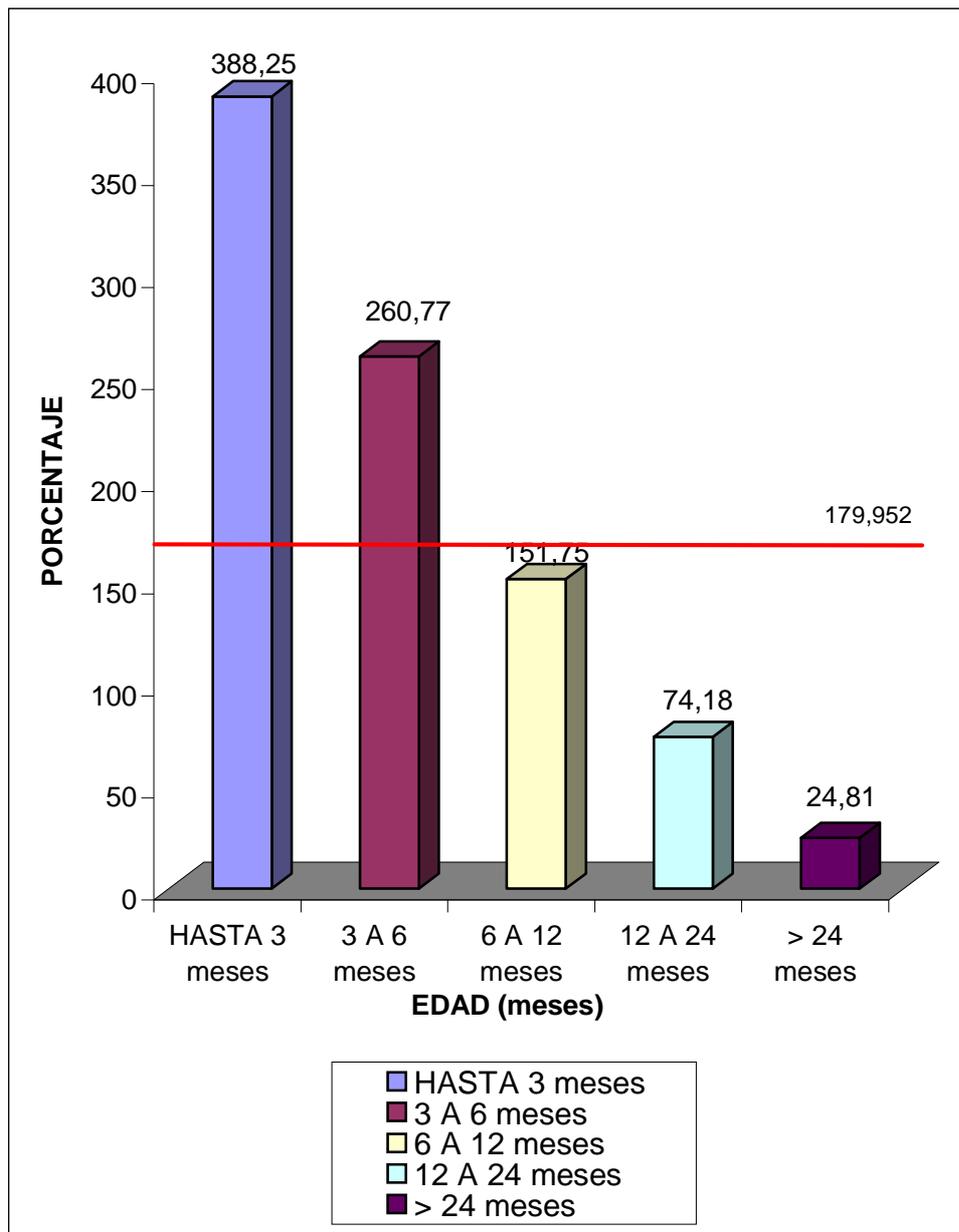
GRÁFICO 5. NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN 130 CANES TOMANDO EN CUENTA EL SEXO.



**CUADRO 5. RANGO DE VALORES DE FOSFATASA ALCALINA EN 78 CANES
PARA SER UTILIZADOS COMO REFERENCIA EN NUESTRO MEDIO
(Abril – Junio de 2.004)**

EDAD	Nº Animales	RANGO IU/l	RANGO nKat/l	Media	I.C 95%
< 3 meses	12	133 – 519	2217-8651	388.25	70,72
3 - 6 meses	9	78 – 432	1300-7201	260.77	87,43
6 - 12 meses	8	105 – 207	1750-3450	151.75	34,86
12 - 24 meses	11	42 – 138	700-2300	74.18	19,13
> 24 meses	38	12 – 207	200-3450	24.81	15,43

GRÁFICO 6. PROMEDIO DE NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA (UI/l) DE ACUERDO A EDAD EN 78 CANES.



VI. DISCUSIÓN.

Debido a que en nuestro medio no se realizaron estudios previos sobre los valores de fosfatasa alcalina en canes, podemos comparan solo con los estudios de autores en otros países.

En el presente trabajo, de un total de 130 muestras de suero sanguíneo de canes se encontraron valores que van desde 12 a 1933 UI/l de fosfatasa alcalina.

Comparando nuestros resultados con los de la literatura (Kraft y Durr, 2000), coinciden en que los animales jóvenes tienen valores más elevados de fosfatasa alcalina, debido a que la mayor actividad de la fosfatasa alcalina ocurre en la etapa de crecimiento y disminuyen los valores apreciablemente a partir de los 12 meses de edad, aunque en nuestro estudio se observaron algunos valores muy alejados de los parámetros de referencia que éstos autores indican por lo que las desviaciones estándar son muy acentuadas en animales con más de 24 meses (459,91) y van disminuyendo paulatinamente los valores muy elevados pueden considerarse casos patológicos. En canes de 12 a 24 meses la desviación estándar disminuye a 267,67 y así sucesivamente de 7 a 12 meses a 162,04, de 3 a 6 meses 148,14 y hasta 3 meses 180,80. Coincidimos con autor citado, en que el sexo no influye en los valores de fosfatasa alcalina sérica en canes.

En cuanto a las razas no se consideró tomar en cuenta esta variable debido a la gran diversidad de estas que hubo en el muestreo. Pero, se debe tomar en

cuenta en la interpretación de los valores de fosfatasa alcalina, en aquellas razas de pequeño tamaño, los valores correspondientes a animales adultos se alcanzan más temprano, mientras que en las razas grandes se alcanzan más tarde, los valores de las razas medianas se sitúan en el medio.

Para determinar los valores de referencia de fosfatasa alcalina en canes en nuestro medio se tomaron 78 casos y se descartaron 52 de aquellos por estar con valores alejados de la media y de los de referencia que indican otros autores (Kraft y Durr, 2.000) como se muestran en el cuadro 5.

Por tanto, los valores de referencia sugeridos en este trabajo, servirán de base para la interpretación de resultados de fosfatasa alcalina de canes en nuestro medio, aunque dependiendo del caso, puede ser necesaria la complementación con otras pruebas bioquímicas como la determinación de GGT, ALT y AST, Ca., P. además de la historia clínica y examen físico minucioso del animal

VII. CONCLUSIÓN.

Por los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, podemos llegar a las siguientes conclusiones:

De las 130 muestras sanguíneas de canes tomadas al azar que llegaron al Laboratorio Clínico del Hospital Universitario de Veterinaria, se encontraron valores que van desde 12 a 1933 UI/l de F.A., con una media de 346,95 UI/l.

Los valores de fosfatasa alcalina se debe interpretar tomando en cuenta la edad de los animales, por cuanto queda confirmado en nuestro estudio que los animales en etapa de crecimiento tienen niveles más elevados en relación a los canes adultos.

Se comprobó que el sexo no tiene influencia en los valores de fosfatasa alcalina en canes.

Los niveles elevados de fosfatasa alcalina, 40% de los casos por encima de los parámetro de referencia para nuestro medio, pueden estar relacionados con colestasis, problemas óseos y otros, pero debe ser complementados con otras pruebas, como las determinaciones de GGT (gama glutamil transferasa), ALT, AST, calcio y fósforo.

Los valores para nuestro medio son de referencias y son los siguientes: hasta 3 meses en el rango de 133 a 519 UI/l de F.A., de 3 a 6 meses 78 a 432 UI/l de F.A., de 6 a 12 meses 105 a 207 UI/l de F.A., de 12 a 24 meses 42 a 138 UI/l de F.A. y mayor a 24 meses 12 a 207 UI/l de F.A.

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

- BERNARD, J H M.D., 1988.** Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. Salva editores. Barcelona España. Pp. 324-325.
- BIRCHARD, S.J.; SCHERDING, G.R.. 1996.** Manual Clínico de Pequeñas Especies. Editorial Mc. Graw-Hill-Interamericana.. Pp. 859-860.
- BLANCO, A. 1.992.** Química Biológica. Séptima edición. Editora el Ateneo, Buenos Aires, Argentina. Pp. 103 – 279.
- KAPLAN, L.A.; PESCE, JA. 1986.** Química Clínica Técnicas de Laboratorio Fisiopatología, método de análisis. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires- Argentina. Pp. 1290-1291.
- KRAFT, W.; DÜRR, U.M. 2.000.** Diagnóstico de Laboratorio Clínico en Veterinaria. Editorial EDIMSA Editores Médicos, S.A. 4ta. edición. Barcelona - España. Pp 120-121.
- LEHNINGER, A. L. 1.985.** Bioquímica de Lehninger. Segunda edición. Editorial Worth Publishers. Barcelona, España. Pp. 190-209.
- MEDWAY, W. y Col., 1.990.** Patología Clínica Veterinaria. UTEHA. México DF. Pp. 49 – 50
- MARTIN, D. W. y Col., 1.984.** Bioquímica de Harper. Novena edición. Editora Talleres Litográfica. México –DF. Pp. 58-59.

MARTINEZ, L. Y Col., 1.985. Cartografía del Instituto geográfico Militar de Bolivia. 10ma. edición.. La Paz, Bolivia. Pp. 109-126.

NELSON, W.R.; COUTO, G.C. 2.001. Manual de Medicina Interna de Pequeños Animales. Harcourt Edición Internacional. Madrid España. Pp. 311.

SODIKOFF, H.CH. 1.996. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en las enfermedades de pequeños animales. 2da. edición. Editorial Diorki. Madrid España. Pp.10.

SONNENWRTH, C.A.; JARET, L. 1.983. Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico. Editorial Médica Panamericana. 8va. edición. Buenos Aires –Argentina. Pp. 496-497.

TODD, R.T. 1.998. Manual de Gastroenterología en animales pequeños. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. Pp. 288, 291, 295.

WAYNE, F.R.; CLIVE, R.R.H. 1.993. Principios de Clinopatología. Medicina Veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp.224.

WIENER LAB. 2.000. Fosfatas Alcalina Optimizada. Brasil. Manual De Procedimientos. Brasil. Pp. 1-4.

WILLARD, M. y Col., 1.993. Diagnostico Clínico Patológico Practico en los Animales pequeños, edición en español, Editora Intermedica. Buenos Aires Argentina. Pp. 245-248.

TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K., JR. 2.003. Especies canina y Felina.
Segunda edición. Avists estudio gráfico Ltda. Brasil. Pp. 231.

www.diagnosticoveterinario2002.com/clinica%20medica/fosfatasa%20alcalina.htm

www.farestaie.com.ar/docs/analisis/alcalina.html

www.labmoreira.com/boletines/febrero.htm

www.biopsicologia.net/fichas/fic-35-1.html

www.abcmedicus.com/articulo/id/183/pagina/4/uso_clinico_enzimas.html

IX. ANEXOS.

ANEXO 1.**COMPARACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA DE FOSFATASA
ALCALINA CON LOS DE OTRO AUTOR.**

EDAD	AUTOR KRAFT Y DURR RANGO UI/l	TRABAJO PROPIO RANGO UI/l
< 3 meses	Hasta 530	519
3-6 meses	Hasta 440	432
6-12 meses	Hasta 250	207
12-24 meses	Hasta 146	138
>24 meses	Hasta 183	207

ANEXO 2.

LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE ESTUDIO.

