

Niveles séricos de tetrayodotironina, triyodotironina y cortisol en caninos de Costa Rica mediante un analizador de inmunoensayo

Tetraiodothyronine, triiodothyronine and cortisol serum levels in Costa Rican dogs using an immunoassay analyzer

Marcela Suárez-Esquivel¹✉, Laura Castro-Ramírez¹

¹ Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.
Email: laura.castro.ramirez@una.cr

Recibido: 18 de Junio de 2013. *Corregido:* 7 de Julio de 2014. *Aceptado:* 6 de Agosto de 2014.

Resumen: Los intervalos de referencia hormonales varían según el método de medición empleado y el ambiente geoquímico donde las poblaciones se desarrollan. Por ende, cada laboratorio debe contar con intervalos de referencia propios para interpretar adecuadamente sus resultados. El objetivo de este trabajo fue establecer un intervalo de referencia para T4 total (TT4), T4 libre (T4L), T3 total (TT3) y cortisol en caninos de Costa Rica mediante el analizador automatizado AIA-360® de Tosoh Bioscience. Se utilizó suero de 122 caninos clínicamente sanos, seleccionados al azar, para establecer los intervalos de referencia. Adicionalmente, se midió TT4, T4L y TT3 en 123 caninos con sintomatología sospechosa de hipotiroidismo, y se realizó la prueba de supresión con dexametasona a dosis baja en 12 caninos sospechosos de hiperadrenocorticismismo. Las muestras se procesaron en el equipo AIA-360® luego de realizar las curvas de calibración respectivas según las indicaciones del fabricante. El intervalo de referencia se estableció con base en los percentiles 3 y 97 de los valores de caninos sanos: TT4 11,58 nmol/L - 50,19 nmol/L; T4L 6,18 pmol/L - 41,18 pmol/L; TT3 0,69 nmol/L - 1,64 nmol/L; cortisol 17,38 nmol/L - 174,64 nmol/L. La concentración de T4L fue estadísticamente menor ($p < 0,05$) en los caninos sospechosos de hipotiroidismo. De los caninos sospechosos de hiperadrenocorticismismo, 4 escaparon a la supresión y 7 suprimieron a las 4 horas post dexametasona, pero mostraron efecto "rebote" a las 8 horas posteriores. Actualmente se cuenta con un intervalo de referencia para TT4, TT3, T4L y cortisol en caninos mediante el uso del equipo AIA-360®.

Palabras clave: caninos, hormonas, intervalo de referencia, AIA-360®.

Abstract: Hormonal reference intervals vary according the measurement method used and the geochemical environment where populations develop. Consequently, each lab must have its own reference intervals in order to interpret results properly. This paper was aimed at establishing a

✉ Autor para correspondencia.
Correo electrónico: marcela.suarez.esquivel@una.cr



reference interval for total T4 (TT4), free T4 (FT4), total T3 (TT3) and cortisol in Costa Rican dogs, using the Tosoh Bioscience's AIA-360® automatic analyzer. Blood serum from 122 randomly selected clinically healthy canines was used to determine reference intervals. Additionally, TT4, FT4 and TT3 were measured in 123 canines with suspected symptoms of hypothyroidism, and a low dose dexamethasone suppression test was performed in 12 canines with suspicious signs of hyperadrenocorticism. Samples were processed in the AIA-360® equipment after calibration curves were performed following manufacturer's instructions. The reference interval was estimated based on the 3rd and 97th percentiles of healthy canines values: TT4 11.58 nmol/L – 50.19 nmol/L; FT4 6.18 pmol/L – 41.18 pmol/L; TT3 0.69 nmol/L – 1.64 nmol/L; cortisol 17.38 nmol/L – 174.64 nmol/L. FT4 concentration was statistically lower ($p < 0.05$) in canines with suspected symptoms of hypothyroidism. Four of the canines with suspicious signs of hyperadrenocorticism did not suppress, while 7 suppressed at 4 hours after dexamethasone, but rebounded at 8 hours. Currently, a reference interval for TT4, FT4, TT3, and cortisol is available for Costa Rican canines using the AIA-360® analyzer.

Key words: canines, hormones, reference interval, AIA-360®.

INTRODUCCIÓN

La evaluación endocrina, mediante mediciones hormonales, ha evolucionado rápidamente, tanto en el tipo de nomenclatura empleado, como en el refinamiento de las técnicas utilizadas y su sensibilidad (Joshi, 2011; Ramos & Carlos-Raboca, 2012). El paso más importante, en la historia de las mediciones hormonales, fue el desarrollo del radioinmunoensayo (RIA) y la producción de anticuerpos monoclonales (Wheeler, 2013). El principio del RIA ha sido aplicado a una gran variedad de sustancias, y el uso de marcaje radioactivo ha sido desplazado, paulatinamente, por los ensayos colorimétricos, fluorométricos, mediante quimioluminiscencia y espectrometría (Wheeler, 2013). Los ensayos que utilizan fluorescencia y quimioluminiscencia presentan múltiples ventajas en comparación con los RIA: (i) reportan mayor sensibilidad entre ensayos (Ramos-Casals et al., 2003; van Casteren et al., 2000); (ii) no generan desechos radioactivos; (iii) el equipo necesario es sencillo y de menor costo; (iv) poseen intervalos con límites de detección bajos y amplios (Ramírez-Benavides & Osorio, 2009; Wang et al., 2007) y (v) son más rentables al emplear reactivos con mayor vida en anaquel (van Casteren et al., 2000).

A pesar de que el principio empleado para las mediciones hormonales sea el mismo en diferentes laboratorios, el uso de diversos equipos y técnicas genera diferencias en los valores de referencia reportados para cada especie (Ganswindt et al., 2012). Los factores como: la edad, el género, la raza y el ambiente (incluyendo altitud y factores geoquímicos) influyen en las mediciones de diferentes parámetros hematológicos y de química clínica en las poblaciones (Dosoo et al., 2012; Fialkovičová et al., 2012; Walton, 2012). Estas circunstancias dificultan la uniformidad de los rangos de valores hormonales e imposibilita la extrapolación, "a ciegas", de los datos reportados en la literatura para la interpretación de los resultados (Ganswindt et al., 2012). Por esta razón, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (por sus siglas en inglés: CLSI), la Federación Internacional para Química Clínica (por sus siglas en inglés: IFCC) y la Sociedad Americana para Patología Clínica Veterinaria (por sus siglas en inglés ASVCP) establecen que los laboratorios deben contar con sus propios intervalos de referencia (Vassault, 2012; Dosoo et al., 2012; ASCP, 2013; ASVCP, 2005).

Aunque las mediciones hormonales, mediante fluorescencia y quimioluminiscencia, presenten mayores ventajas que los RIA, su ejecución manual implica costos elevados por la elaboración repetitiva de curvas de calibración y el mantenimiento de los equipos. Esto implica que los laboratorios deben recibir un volumen elevado de muestras para que resulte rentable mantener el equipo y la compra de insumos (Higgs et al., 2014). Actualmente, existen pruebas desarrolladas para humanos en analizadores automatizados con base en quimioluminiscencia y fluorimetría que, además de ser más económicos, podrían ser de utilidad en medicina veterinaria, debido a la buena reacción cruzada entre hormonas caninas y humanas (Feldman & Nelson, 2007).

Un equipo automatizado, que se encuentra disponible para realizar mediciones hormonales en humanos, es el AIA-360® (TosohBioscience). En vista de que no existen valores hormonales de referencia, reportados específicamente para caninos costarricenses, y que se cuenta con referencias del uso del equipo AIA-360® para mediciones de hormonas en caninos (Louisiana-State-University, 2011; Vermeulen, 2009; Machida et al., 2008; Higgs et al., 2014), se usó este equipo para establecer un intervalo de referencia para los niveles hormonales de tiroxina total (TT4), tiroxina libre (T4L), triyodotironina total (TT3) y cortisol en suero de caninos costarricenses sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de los caninos

Caninos clínicamente sanos

Para la determinación de los rangos normales, se incluyó una población de 122 caninos, (*Canis familiaris*) clínicamente sanos, seleccionados en forma aleatoria, independientemente de tamaño, raza, edad, sexo, o tipo de alimentación. La selección aleatoria se realizó con el fin de contar con datos que representaran condiciones generales para los caninos en el país y que, por tanto, pudieran ser utilizados para la evaluación posterior de la población, independiente de raza y edad. Los caninos fueron divididos en: 4 grupos según la edad y 3 grupos según tamaño (cuadros 1 y 2) para el análisis de los resultados. El uso de estos animales en el estudio, se realizó con el consentimiento de los propietarios.

Cuadro 1. Distribución, por edades y sexo, de los caninos clínicamente sanos.

Sexo	Edad				Total
	6-11 meses	1-5 años	5-10 años	>10 años	
Macho	6	40	7	1	55
Hembra	3	49	11	3	66
Total	9	89	18	4	122



Se realizó, a cada individuo, un examen objetivo general (EOG) y la evaluación de microhematocrito. No se incluyó animales con un hematocrito inferior a 36% ni superior a 47%, tampoco los que mostraron cualquier alteración en el EOG ni individuos muy agresivos. Además, no se incluyó caninos que recibieran algún tipo de tratamiento, con el fin de evitar su influencia sobre los valores hormonales.

Cuadro 2. Razas representadas en la población canina muestreada.

Grupo	Raza	Estado			Total
		Sano	Hipotiroideo	Cushing	
Razagrande	Afgano	-	1	-	1
	Boxer	2	1	-	3
	Dálmata	1	-	-	1
	Doberman	1	1	-	2
	Dogo Alemán	-	1	-	1
	Fila brasilero	-	2	-	2
	Golden Retriever	3	7	-	10
	Gran Danés	1	-	-	1
	Husky	2	3	-	5
	Labrador Retriver	9	13	1	23
	Malamute	-	1	-	1
	Pastor Alemán	2	7	-	9
	Rottweiler	1	-	1	2
	Weimaraner	-	1	-	1
	Razamediana	Bull Dog	3	3	-
Cocker Spaniel		4	10	2	16
Schnauzer		2	12	2	16
Sharpei		-	1	-	1
SRD*/ mestizo		2	20	1	81
Stanford		1	1	-	2
Terrier		3	2	-	5
Razapequeña	Beagle	2	6	-	8
	Chihuahua	2	3	-	5
	Dachshund	8	7	-	15
	Maltés	1	1	-	2
	Pinscher	5	2	1	8
	Pomeranian	-	1	-	1
	Poodle	6	14	2	22
	Pug	-	1	-	1
	Yorky	1	1	2	4

* sin raza definida

Caninos sospechosos de hipotiroidismo e hiperadrenocorticismo

Posterior a la obtención de los rangos normales, se realizó medición de TT4, T4L y TT3 en 123 caninos (cuadros 2 y 3) con sintomatología clínica indicativa de hipotiroidismo, por ejemplo, obesidad o sobrepeso a pesar de mantener una dieta restringida y actividad física, depresión, alopecia simétrica bilateral, dermatitis y/o piel engrosada (Dixon, 2012)

Asimismo, se realizó la prueba de supresión con dexametasona a dosis baja (0.015 mg/Kg) en 12 caninos (cuadros 2 y 3) sospechosos de hiperadrenocorticismo (síndrome de Cushing), dado que presentaban los siguientes signos: obesidad centrípeta, abdomen pendulante, alopecia simétrica bilateral, dermatitis y/o piel delgada (Herrtage, 2012).

Cuadro 3. Distribución por edades y sexo de los caninos sospechosos de síndrome de Cushing o hipotiroidismo.

Posible endocrinopatía	Sexo	Edad				Total
		6-11 meses	1-5 años	5-10 años	>10 años	
Cushing	Macho	-	1	1	-	2
	Hembra	-	5	4	1	10
Hipotiroidismo	Macho	-	16	23	10	49
	Hembra	1	23	38	12	74
	Total	1	39	61	22	123

Toma y manejo de las muestras

Se procuró tomar las muestras temprano, en el lapso de 8 a 10 a.m.; y que los individuos se encontraran en ayuno de ocho horas como mínimo. De cada canino, se tomó una muestra de 3 a 5 mL de sangre, mediante venopunción en la vena cefálica o yugular, las cuales se colocaron en tubos estériles, sin anticoagulante.

En los caninos sospechosos de hiperadrenocorticismo, se tomó una muestra de cortisol basal; se administró la dosis correspondiente de dexametasona y se tomaron dos muestras de sangre posteriormente, a las 4 y a las 8 horas, a partir de la aplicación del medicamento, según protocolos previamente establecidos (Pessina et al., 2009; Feldman & Nelson, 2007).

La sangre sin anticoagulante permaneció, a temperatura ambiente, un lapso de 20 a 30 minutos con el fin de que ocurriera la coagulación y retracción del coágulo. Posteriormente, las muestras fueron separadas en una centrífuga Thermo Scientific CL2® a 1000 g, durante 5 minutos, se retiró el suero, y se colocó en tubos de 1.5 mL. Las muestras de suero se colocaron a 4°C para su transporte y, seguidamente, se congelaron a -20°C para su análisis posterior.



Procesamiento de las muestras en el equipo AIA 360®

Los sueros se procesaron durante las siguientes 24 a 48 horas, luego de coleccionar las muestras.

Las concentraciones séricas de TT4, T4L, TT3 y cortisol en caninos se midieron con copas comerciales ST AIA PACK T4®, ST AIA PACK FT4®, ST AIA-PACK TT3® y ST AIA-PACK CORTISOL® marca TosohBioscience. El ensayo, para cada una de las hormonas, se realizó en el equipo de inmunoensayo automatizado AIA-360®, según las indicaciones del fabricante. La calibración, el chequeo diario y los procedimientos de mantenimiento y uso de controles de diferente concentración (MultiAnalyte Control-MAC®, TosohBioscience) se realizaron conforme con lo descrito en el "Manual del Usuario" provisto por la casa comercial.

El analizador AIA 360® se basa en un ensayo competitivo fluorescente por inmunoabsorción ligado a enzimas. Este ensayo se realiza, por completo, en copas de muestras de un único uso, las cuales contienen todos los reactivos necesarios. Las copas incluyen perlas magnéticas impregnadas con anticuerpos y la hormona marcada con una enzima. La hormona presente, en la muestra, (suero canino), compite contra la hormona marcada por los sitios de unión de los anticuerpos presentes en las perlas magnéticas. Posteriormente, las perlas son lavadas para remover la hormona marcada no unida, se agrega el sustrato fluorogénico 4-metilumbeliferil fosfato (4MUP) y se incuba. La cantidad de enzima que se une a las perlas es inversamente proporcional a la concentración de hormona en la muestra.

El primer resultado se obtuvo a los 20 minutos de iniciado el procedimiento, y a partir de ese tiempo inicial, se obtuvo un resultado por minuto.

De acuerdo con lo indicado por el fabricante, el equipo utilizó 25µL de suero para la medición de TT3 y 10µL de suero para cada una de las otras mediciones: TT4, T4L y cortisol.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante los programas IBM® SPSS® Statistics versión 19 (IBM Company, 2010) e InfoStat/Eversión 2014 (Di Rienzo et al., 2014). A partir de los datos de la población sana, se calculó la media, la mediana, la desviación estándar (SD) y el valor mínimo y máximo. Se estimó el intervalo normal para cada hormona mediante los percentiles P3 y P97 de la población.

La relación de los valores hormonales, por tamaño de los caninos, se analizó mediante la prueba estadística Kruskal-Wallis.

La comparación de los resultados de TT4, T4L y TT3, entre los caninos sospechosos de hipotiroidismo y los clínicamente sanos, se realizó mediante la prueba estadística U Mann-Whitney.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento del intervalo de referencia

En el cuadro 4, se muestran los resultados del análisis estadístico realizado a partir de los valores hormonales obtenidos en la población clínicamente sana. Los rangos establecidos, para cada hormona, fueron: TT4 11,58 nmol/L a 50,19 nmol/L; T4L 6,18 pmol/L a 41,18 pmol/L; TT3 0,69nmol/L a 1,64 nmol/L y cortisol 17,38 nmol/L a 174,64 nmol/L.

Cuadro 4. Valores de TT4, T4L, TT3 y cortisol en perros clínicamente sanos determinados mediante el equipo AIA-360®.

Resultado	Hormona			
	TT4 (nmol/L)	T4L (pmol/L)	TT3 (nmol/L)	CORT5 (nmol/L)
Media	26.56	15.26	0.97	54.62
D.E.*	14.76	8.53	0.24	40.21
Mínimo	10.3	5.66	0.68	15.45
Máximo	117.12	56.76	1.87	224.03
Mediana	24.45	12.87	0.92	44.14
Percentil3	11.58	6.18	0.69	17.38
Percentil97	50.19	41.18	1.64	174.64

* Desviación estándar
 § Cortisol

Los rangos obtenidos, mediante el uso del equipo AIA-360® en nuestras condiciones, fueron cercanos a los indicados por autores y centros de referencia respetados en el campo de la endocrinología veterinaria (Feldman and Nelson, 2007; Kemppainen & Zerbe, 1989; Paradis et al., 2003; Cornell-University, 2012; Higgs et al., 2014).

Las diferencias encontradas, entre los reportes de la literatura, pueden deberse tanto a las variaciones por el método empleado, como a la heterogeneidad de la población muestreada (Ganswindt et al., 2012; Fialkovičová et al., 2012). No se realizó una comparación con un estándar de oro (RIA con anticuerpos específicos contra hormonas caninas), dado que no se cuenta con tales condiciones en el país; mientras que la exportación de las muestras podría



afectar la estabilidad de los analitos (Waite et al., 1987; Nachreiner & Refsal, 2012) T3 e inducir sesgo en el análisis del método. Se reconoce la ausencia de comparación como una limitante en la confianza de los valores reportados y el análisis de los resultados.

El valor basal de cortisol no es útil con fines diagnósticos, puesto que su concentración varía con el estrés y el momento de la toma. Si se requiere descartar o confirmar hiperadrenocorticismos, es necesario realizar las mediciones de cortisol de acuerdo con un protocolo de supresión con dexametasona o estimulación con corticotropina (ACTH). Según la referencia de la mayoría de laboratorios, se espera valores inferiores a 38,63 nmol/L a las 4 y a las 8 horas, luego de la administración del medicamento en individuos sanos (Pessina et al., 2009; Feldman & Nelson, 2007).

Si bien se han reportado diferencias en los valores hormonales, hallados en caninos de diferente sexo, raza y edad (Gaughan & Bruyette, 2001; Feldman & Nelson, 2007; Fialkovičová et al., 2012; Ramírez-Benavides & Osorio, 2009), en la población costarricense muestreada no se halló diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) con respecto al tamaño de la raza ni al sexo (cuadro 5). No fue factible realizar un análisis basado en la edad de los individuos, pues no se incluyó un número representativo de individuos menores al año ni mayores a 10 años. Por tanto, se debe realizar más estudios dirigidos a determinar las variaciones dentro de la población costarricense con base en la edad.

Cuadro 5. Resultados por sexo

Hormonas	Sexo	Medias	D.E.	Medianas
T4 (nmol/L)	Macho	27.87	14.71	24.45
	Hembra	25.63	14.85	25.10
T4L (pmol/L)	Macho	15.97	9.32	12.87
	Hembra	14.83	7.96	13.00
TT3 (nmol/L)	Macho	1.03	0.29	0.94
	Hembra	0.93	0.19	0.88
CORT (nmol/L)	Macho	57.33	40.87	45.8
	Hembra	52.23	39.92	41.8

Análisis de individuos sospechosos de hipotiroidismo

La mayoría de los individuos, con sintomatología compatible con hipotiroidismo, mostraron valores inferiores al intervalo de referencia para T4L determinado en este estudio (Cuadro

6). La comparación de los valores de T4L en estos caninos y los clínicamente sanos, resultó estadísticamente significativa ($p < 0,05$) según la prueba estadística de U Mann-Whitney.

Cuadro 6. Valores de TT4, T4L y TT3 en individuos con sintomatología clínica compatible con hipotiroidismo.

Hormona	Mediana		Rango
	Sanos	Hipotiroides	
TT4 (nmol/L)	24,45	21,88	11,58 – 50,19
T4L (pmol/L)	12,87	5,02*	6,18 – 41,18
TT3 (nmol/L)	0,92	0,87	0,69 – 1,64

* $p < 0,05$

Las mediciones de hormonas tiroideas pueden verse afectadas por enfermedades concomitantes de origen no tiroideo (hepatopatías, problemas renales, neoplasias) y por el uso de medicamentos que modifiquen la función del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, el metabolismo hormona la síntesis de proteínas de transporte (Graham, 2009; Daminet & Ferguson, 2003). De ahí la importancia de excluir, de la población muestreada, a los caninos que se encontraran con algún tipo de medicación. Asimismo, nuestros resultados refuerzan la relevancia de evaluar la T4L, la cual es menos afectada por variaciones en las proteínas de transporte o administración de ciertos medicamentos; por ende, es más útil en el diagnóstico de hipotiroidismo (Graham, 2009).

Puesto que la sintomatología clínica en las endocrinopatías es diversa, se ha propuesto implementar las mediciones tiroideas como parte de las pruebas de laboratorio rutinarias en caninos. Esto podría identificar pacientes hipotiroides en etapas iniciales y prevenir complicaciones futuras (Joshi, 2011), lo cual apoya la necesidad de contar con un intervalo de referencia local para la interpretación de los resultados.

Análisis de individuos sospechosos de hiperadrenocorticismio

Los resultados de las mediciones de cortisol, en los caninos sospechosos de hiperadrenocorticismio, se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Resultados de la prueba de supresión con dexametasona a dosis baja en doce caninos con sintomatología sospechosa de hiperadrenocorticismo.

	CORT* basal (nmol/L)	CORT 4 horas (nmol/L)	CORT 8 horas (nmol/L)
Canino 1	224,58	11,31 [†]	140,98
Canino 2	291,07	14,35 [†]	84,43
Canino 3	212,99	110,64	143,74
Canino 4	131,60	7,73 [†]	42,49
Canino 5	174,64	54,63	16,00 [†]
Canino 6	269,00	29,52 [†]	59,87
Canino 7	71,46	297,42	135,19
Canino 8	120,57	136,57	137,67
Canino 9	242,79	309,56	252,45
Canino 10	149,81	17,93	96,01
Canino 11	135,74	10,48 [†]	73,11
Canino 12	237,55	181,54	214,37

* Cortisol

[†] Resultado $\leq 38,63$ nmol/L

De los individuos analizados, ocho mostraron supresión con la administración de la dexametasona, dado que los valores a las 4 horas fueron inferiores a 38,63 nmol/L o menores al 50% de la medición basal.

Los caninos 7, 8, 9 y 12 mostraron ausencia de supresión. Esta ausencia puede ser consecuencia de: neoplasia adrenal, neoplasia hipofisiaria de tipo macroadenoma; afección del lóbulo intermedio hipofisiario, o Cushing no ACTH dependiente por causas no tumorales (Feldman & Nelson, 2007).

Varios de los caninos mostraron un "efecto rebote" a las 8 horas (individuos 1, 2, 3, 4, 6, 10 y 11), pues el resultado supera el valor anterior. Este comportamiento "rebote" se ha asociado con macroadenomas hipofisiarios o con carcinomas de corteza adrenal (Feldman & Nelson, 2007).

En el diagnóstico de hiperadrenocorticismo toma particular importancia la realización de una ultrasonografía abdominal por un operador calificado, pues la selección de pruebas hormonales dependerá del estado de las glándulas adrenales.

Aunque se cuente con pruebas diagnósticas para enfermedades endocrinas, la interpretación de cualquier resultado de medición hormonal debe ser parte de una evaluación integral del paciente. La valoración del paciente debe estar compuesta por un análisis riguroso de la sintomatología clínica y de otras pruebas de laboratorio que incluyan hematología y evaluación de las funciones hepática y renal (Feldman & Nelson, 2007).

Los intervalos establecidos, mediante el equipo AIA-360®, acá reportados son los primeros valores hormonales determinados para una población canina costarricense. Estos datos

facilitan la interpretación de los resultados de mediciones hormonales para el diagnóstico de patologías tiroideas y adrenales en caninos. Asimismo, los resultados apoyan que el equipo AIA-360® puede ser utilizado para la medición de hormonas tiroideas y cortisol en caninos, como se ha reportado previamente (Higgs et al., 2014).

CONCLUSIONES

El equipo AIA-360® permite la medición de TT4, T4L, TT3 y cortisol en caninos. Se reporta, por primera vez, un intervalo de referencia para estas hormonas, en una población canina costarricense, que facilita la interpretación de los resultados de evaluación hormonal.

REFERENCIAS

- ASVCP, American Society for Veterinary Clinical Pathology. 2013. ASVCP guidelines: quality assurance for point-of-care testing in veterinary medicine. 42:405–23. doi:10.1111/vcp.12099.
- ASVCP, American Society for Veterinary Clinical Pathology. 2005. Guideline for the Determination of Reference Intervals in Veterinary Species and Other Related Topics. 1–33.
- Cornell-University. 2012. Animal Health Diagnostic Center- New York State Veterinary Diagnostic Laboratory.
- Damiet, S., & D.C. Ferguson. 2003. Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 17:463–72.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanove, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, & C.W. Robledo. 2014. InfoStat.
- Dixon, R. 2012. Hipotiroidismo canino. *In* Manual de Endocrinología en pequeños animales. C. Mooney and M. Peterson, editors. Ediciones S, Barcelona, España. 111–137.
- Dosoo, D.K., K. Kayan, D. Adu-Gyasi, E. Kwara, J. Ocran, K. Osei-Kwakye, E. Mahama, S. Amenga-Etego, P. Bilson, K.P. Asante, K. a Koram, & S. Owusu-Agyei. 2012. Haematological and biochemical reference values for healthy adults in the middle belt of Ghana. *PLoS One.* 7:e36308.
- Feldman, E.C., & R.W. Nelson. 2007. Endocrinología y reproducción canina y felina. 3rd ed. Inter-Médica.
- Fialkovičová, M., S. Mardzinová, M. Benková, J. Mojžišová, M. Gaálová, & E. Sesztáková. 2012. Seasonal influence on the thyroid gland in healthy dogs of various breeds in different weights. *Acta Vet. Brno.* 81:183–188.
- Ganswindt, A., J.L. Brown, E.W. Freeman, A.J. Kouba, L.M. Penfold, R.M. Santymire, M.M. Vick, N. Wielebnowski, E.L. Willis, & M.R. Milnes. 2012. International Society for Wildlife Endocrinology: the future of endocrine measures for reproductive science, animal welfare and conservation biology. *Biol. Lett.* doi:10.1098/rsbl.2011.1181.



- Gaughan, K., & D. Bruyette. 2001. Thyroid function testing in Greyhounds. *Am J Vet Res.* 62:1130–3.
- Graham, P. 2009. Canine hypothyroidism: diagnosis and therapy. *In Pract.* 31:77–82.
- Herrtage, M.E. 2012. Hiperadrenocorticism canino. *In Manual de Endocrinología en pequeños animales.* C.T. Mooney and M.E. Peterson, editors. Ediciones S, Barcelona, España. 217–247.
- Higgs, P., M. Costa, A. Freke, & K. Pappasoulotis. 2014. Measurement of thyroxine and cortisol in canine and feline blood samples using two immunoassay analysers. *J. Small Anim. Pract.* Jan 20.:1–7. doi:10.1111/jsap.12181.
- IBM Company. 2010. IBM SPSS Statistics.
- Joshi, S.R. 2011. Laboratory evaluation of thyroid function. *J. Assoc. Physicians India.* 59 Suppl:14–20.
- Kempainen, R.J., & C.A. Zerbe. 1989. Common Endocrine Diagnostic Tests: Normal Values and Interpretation. *In Current Veterinary Therapy X: Small Animal Practice.* R.W. Kirk, editor. W.B. Saunders., Philadelphia. 961–968.
- Louisiana-State-University. 2011. Canine Index. *Canine Breed. Manag.*
- Machida, T., E. Uchida, K. Matsuda, K. Hirayama, K. Yoshii, M. Takiguchi, & H. Taniyama. 2008. Aldosterone, Corticosterone and Cortisol Secreting Adrenocortical Carcinoma in a Dog: Case Report. *J. Vet. Med. Sci.* 70:317–320.
- Nachreiner, R., & K. Refsal. 2012. Toma, almacenaje y transporte de muestras. *In Manual de Endocrinología en pequeños animales.* C. Mooney and M. Peterson, editores. Ediciones S, Barcelona, España. 1–6.
- Paradis, M., F. Sauvé, J. Charest, K.R. Refsal, M. Moreau, & J. Dupuis. 2003. Effects of moderate to severe osteoarthritis on canine thyroid function. *Can. Vet. J.* 44:407–12.
- Pessina, P., A. Fernández-Foren, E. Cueto, L. Delucchi, V. Castillo, & A. Meikle. 2009. Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexamethasone tests in healthy female and male dogs. *Acta Vet. Scand.* 51:33. doi:10.1186/1751-0147-51-33.
- Ramírez-Benavides, G., & H. Osorio. 2009. Niveles séricos de tetrayodotironina libre (T4L), mediante el método de electroquimiolumiscencia en caninos. *Rev. Científica FCV-LUZ.* XIX:238–241.
- Ramos, G.M.M., & J.L. Carlos-Raboca. 2012. The Degrees of Agreement Between Chemiluminescence Enzyme Immunoassay Versus Immunoradiometric Assay and Radioimmunoassay Among Adult Filipino Patients with Different States of Thyroid Function. *Philipp. J. Intern. Med.* 50:5–8.
- Ramos-Casals, M., M. García-Carrasco, M.P. Brito, a López-Soto, & J. Font. 2003. Autoimmunity and geriatrics: clinical significance of autoimmune manifestations in the elderly. *Lupus.* 12:341–355.

- Van Casteren, J.I., W.G. Schoonen, & H.J. Kloosterboer. 2000. Development of time-resolved immunofluorometric assays for rat follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone and application on sera of cycling rats. *Biol. Reprod.* 62:886–94.
- Vassault, A. 2012. Quality control tools. *In* Quality of Management & Quality of Analysis. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, editor. 56–83.
- Vermeulen, M.A.E. 2009. Ovarian Color-Doppler Ultrasonography to Predict Ovulation in the Bitch. Louisiana State University.
- Waite, K. V, G.F. Maberly, & C.J. Eastman. 1987. Storage conditions and stability of thyrotropin and thyroid hormones on filter paper. *Clin. Chem.* 33:853–5.
- Walton, R.M. 2012. Subject-based reference values: biological variation, individuality, and reference change values. *Vet. Clin. Pathol.* 41:175–81.
- Wang, X., H. Chen, J.-M. Lin, & X. Ying. 2007. Development of a highly sensitive and selective microplate chemiluminescence enzyme immunoassay for the determination of free thyroxine in human serum. *Int. J. Biol. Sci.* 3:274–80.
- Wheeler, M.J. 2013. A Short History of Hormone Measurement. *Methods Mol. Biol.* 1065:1–6.

