



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

# UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Facultad de Veterinaria

Departamento de Medicina y Cirugía Animal

**ESTUDIO CLINICOPATOLÓGICO DEL GALGO ESPAÑOL:  
HEMOGRAMA, ANÁLISIS DE GASES Y EQUILIBRIO ÁCIDO-  
BASE, ELECTROLITOS, ANTÍGENO ERITROCITARIO CANINO  
DEA 1.1, BIOQUÍMICA SÉRICA, ELECTROFORESIS DE  
PROTEÍNAS SÉRICAS Y HAPTOGLOBINA.**

Córdoba, Junio 2015

Trabajo presentado por el  
Licenciado en Veterinaria  
Ignacio mesa Sánchez  
Para optar al Grado de Doctor

TITULO: *Estudio clínicopatológico del galgo español: hemograma, análisis de gases y equilibrio ácido-base, electrolitos, antígeno eritrocitario canino dea 1.1, bioquímica sérica, electroforesis de proteínas séricas y haptoglobina*

AUTOR: *Ignacio Mesa Sánchez*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2015  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---

Título: Estudio clinicopatológico del Galgo Español: hemograma, análisis de gases y equilibrio ácido-base, electrolitos, antígeno eritrocitario canino DEA 1.1, bioquímica sérica, electroforesis de proteínas séricas y haptoglobina. © Julio 2015

Autora: Ignacio Mesa Sánchez

Contacto: imesa84@gmail.com

Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Córdoba

Campus Universitario de Rabanales. Ctra N-IV, 14014, Córdoba

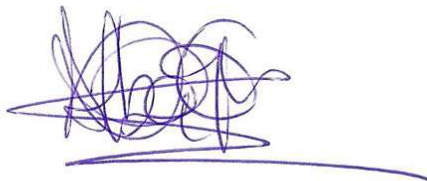
Directoras: Alba Galán Rodríguez y M<sup>a</sup> del Mar Granados Machuca

**Dña. Alba Galán Rodríguez y Dña. M<sup>a</sup> del Mar Granados Machuca,**  
Profesoras Contratadas Doctoras del Departamento de Medicina y Cirugía  
Animal de la Facultad de Veterinaria de Córdoba,

**INFORMAN:**

Que la Tesis Doctoral titulada " **ESTUDIO CLINICOPATOLÓGICO DEL GALGO ESPAÑOL: HEMOGRAMA, ANÁLISIS DE GASES Y EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE, ELECTROLITOS, ANTÍGENO ERITROCITARIO CANINO DEA 1.1, BIOQUÍMICA SÉRICA, ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS SÉRICAS Y HAPTOGLOBINA**" , de la que es autor el Licenciado en Veterinaria D. Ignacio Mesa Sánchez, ha sido realizada bajo nuestra dirección y asesoramiento, en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, y consideramos que reúne la calidad y las condiciones científicas necesarias para ser presentada ante el tribunal correspondiente a fin de optar al Grado de Doctor.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Córdoba, a nueve de Junio de dos mil quince



Alba Galán Rodríguez



M<sup>a</sup> del Mar Granados Machuca



***A mis padres, a mi hermano***

## ÍNDICE

## ÍNDICE

Resumen/ Abstract .....	1
<b>Capítulo I – Introducción .....</b>	<b>5</b>
1. Los lebreles (sighthounds) .....	6
1.1 El Galgo Español .....	9
1.1.1 Historia del Galgo Español .....	9
1.1.2 El Galgo Español en la clínica veterinaria: importancia como animal de compañía y como donante de sangre .....	11
2. Importancia del análisis laboratorial. Variabilidad asociada a la raza .....	13
2.1 Interés y controversia en la elaboración de intervalos de referencia específicos de raza .....	13
2.2 Importancia del hemograma. Variabilidad asociada a la raza .....	15
2.2.1 Particularidades específicas descritas en el hemograma de los lebreles .....	17
2.3 Importancia del análisis de gases y equilibrio ácido-base. Variabilidad asociada a la raza .....	21
2.3.1. Particularidades específicas descritas en el análisis de gases y equilibrio ácido-base de los lebreles .....	23
2.4 Importancia del análisis de electrolitos. Variabilidad asociada a la raza .....	25
2.4.1. Particularidades específicas descritas en el análisis de electrolitos de los lebreles .....	28
2.5 Importancia del antígeno eritrocitario canino (DEA) 1.1. Variabilidad asociada a la raza .....	29
2.5.1. Particularidades específicas descritas en el antígeno eritrocitario canino (DEA) 1.1 de los lebreles .....	32
2.6 Importancia de la bioquímica sérica. Variabilidad asociada a la raza .....	33
2.6.1. Particularidades específicas descritas en la bioquímica sérica de los lebreles .....	37
2.7 Importancia de la electroforesis de proteínas séricas. Variabilidad asociada a la raza .....	39
2.7.1. Particularidades específicas descritas en la electroforesis de proteínas séricas de los lebreles .....	40
2.8 Importancia de las proteínas de fase aguda. Variabilidad asociada a la raza .....	42
2.8.1. Particularidades específicas descritas en las proteínas de fase aguda de los lebreles .....	43
2.8.2. Importancia de la haptoglobina y particularidades específicas descritas en los lebreles .....	44
2.9 Otras particularidades específicas descritas en los lebreles .....	45
<b>Capítulo II – Hipótesis y Objetivos .....</b>	<b>47</b>



**Capítulo III – Material y Método, Resultados y Discusión**

1. Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish Greyhound) .....	49
2. Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in Galgos (Spanish Greyhounds) .....	55
3. Serum biochemical profile in Galgos .....	59
4. Serum protein electrophoresis in Galgos .....	67
5. Haptoglobin concentration in Galgos and Greyhounds .....	75

<b>Capítulo IV – Repercusión de las particularidades clinicopatológicas del Galgo Español en su selección como donante de sangre .....</b>	<b>79</b>
--	-----------

<b>Capítulo V – Conclusiones .....</b>	<b>83</b>
--	-----------

<b>Capítulo VI – Bibliografía .....</b>	<b>85</b>
---	-----------

Producción científica y transferencia de conocimiento derivada de esta tesis doctoral .....	103
---	-----

Agradecimientos .....	107
-----------------------	-----

## **RESUMEN / ABSTRACT**

## **RESUMEN**

El hemograma, análisis de gases sanguíneos, equilibrio ácido-base, electrolitos, antígeno eritrocitario canino DEA 1.1, bioquímica sérica, electroforesis de proteínas séricas y proteínas de fase aguda son pruebas laboratoriales de uso común en la práctica clínica. Estas pruebas proporcionan información importante para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de nuestros pacientes. En perros, la cría selectiva de razas ha llevado a un fuerte aislamiento genético y hay evidencia de que la raza puede tener un importante impacto en los intervalos de referencia. El uso de intervalos de referencia inadecuados podría dar lugar a una mala interpretación de los resultados laboratoriales. Aunque no es sencillo establecer nuevos intervalos de referencia para cada raza, actualmente se considera indispensable realizar estudios preliminares para evaluar las potenciales diferencias entre razas y evitar errores en la interpretación analítica.

El Galgo Español es miembro de la familia de los lebreles y es una de las razas más populares en España. Diversos estudios han evidenciado que los lebreles presentan valores laboratoriales que están fuera de los intervalos de referencia establecidos para la población canina general. Hasta la fecha, estos valores laboratoriales no han sido estudiados en Galgos Españoles y a menudo se asumen las particularidades que han sido previamente descritas en el Greyhound. Sin embargo, estudios recientes sugieren que cada raza lebel presenta sus propias características laboratoriales específicas y, por lo tanto, las particularidades clinicopatológicas del Greyhound no deberían ser extrapoladas a otras razas de lebreles.

Para estos estudios se tomaron muestras sanguíneas de Galgos Españoles sanos (donantes en el Banco de Sangre del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba) y de un grupo control constituido por perros de otras razas. Se realizaron hemograma, análisis de gases sanguíneos y equilibrio ácido-base, electrolitos, antígeno eritrocitario canino 1.1, bioquímica sérica, electroforesis de proteínas séricas y concentración de haptoglobina para determinar las características específicas de los Galgos Españoles en comparación con el grupo control.

Los Galgos Españoles tuvieron valores significativamente superiores de hematocrito ( $0.52 \pm 0.05$  L/L), concentración de hemoglobina ( $183.63 \pm 19.88$  g/L), recuento de eritrocitos ( $7.63 \pm 0.94 \times 10^{12}$ /L) y pH ( $7.34 \pm 0.03$ ), así como un menor recuento de plaquetas ( $200.79 \pm 62.23 \times 10^9$ /L) que los perros de otras razas pertenecientes al grupo control (hematocrito =  $0.47 \pm 0.03$  L/L; concentración de hemoglobina =  $169.00 \pm 12.90$  g/L; recuento de eritrocitos =  $7.01 \pm 0.71 \times 10^{12}$ /L; pH =  $7.32 \pm 0.04$ ; recuento de plaquetas =  $267.15 \pm 92.84 \times 10^9$ /L). La prevalencia del antígeno eritrocitario canino 1.1 en Galgos Españoles (51.7%) fue similar a la prevalencia en otras razas (55.7%). Esta raza mostró mayor actividad de creatina quinasa ( $230.76 \pm 139.14$  U/L), así como una menor concentración de colesterol ( $170.78 \pm 40.80$  mg/dL) y glucosa ( $88.64 \pm 18.19$  mg/dL) que otras razas (creatina quinasa =  $153.69 \pm 69.09$  U/L; colesterol =  $206.16 \pm 50.50$  mg/dL; glucosa =  $103.33 \pm 14.20$  mg/dL). En la electroforesis de proteínas séricas, presentaron mayor concentración de albúmina ( $3.54 \pm 0.53$  g/dL) y  $\beta$ -globulinas ( $1.90 \pm 0.44$  g/dL), y menor concentración de globulinas totales ( $3.44 \pm 0.51$  g/dL),  $\alpha_2$ -globulinas ( $0.54 \pm 0.19$  g/dL) y  $\gamma$ -globulinas ( $0.58 \pm 0.18$  g/dL) que el grupo control (albúmina =  $2.97 \pm 0.54$  g/dL; globulinas totales =  $3.91 \pm 0.56$  g/dL;  $\alpha_2$ -globulinas =  $1.06 \pm 0.17$  g/dL;  $\beta$ -globulinas =  $1.47 \pm 0.36$  g/dL;  $\gamma$ -globulinas =  $0.95 \pm 0.34$  g/dL). Además, el Galgo Español presentó una concentración de haptoglobina ligeramente más alta ( $1.78 \pm 1.41$  g/L), que la presente en otras razas ( $0.96 \pm 0.85$  g/L).

Estos datos confirman que el Galgo Español presenta diferencias clinicopatológicas no solo con respecto a otras razas, sino también con respecto al Greyhound y otros lebreles. Es fundamental que los profesionales clínicos conozcan las particularidades específicas de esta raza para evitar errores en el proceso diagnóstico al interpretar los resultados laboratoriales. Además, las características clinicopatológicas presentes en el Galgo Español podrían tener importantes repercusiones en su selección como donante de sangre.

## **ABSTRACT**

The complete blood count, blood gas analysis, acid-base balance, electrolytes, Dog Erythrocyte Antigen 1.1, serum biochemistry, serum protein electrophoresis and acute phase proteins are laboratory tests commonly used in clinical practice. These tests provide important diagnostic, prognostic and therapeutic information. Inappropriate reference intervals in these tests can lead to misinterpretations of laboratory results. In dogs, breed barriers have led to strong genetic isolation and there is evidence that genetic background and breed may impact on their reference intervals. Although it is not easy to establish new reference intervals for each breed, it is considered essential to perform exploratory studies to assess potential differences between canine breeds to avoid errors in the analytical interpretation.

The Galgo Español is member of the sighthound family and is one of the most popular breeds in Spain. Several sighthound breeds have laboratory values that are outside the reference intervals established for the general population of dogs. These tests have not been studied in Galgos Españoles and they are often interpreted as if they were Greyhounds. However, recent studies suggest that each sighthound breed presents its own specific laboratory features, and therefore, Greyhound clinicopathological features should not be extrapolated to other sighthound breeds.

Blood samples were taken from a group of healthy Galgos Españoles (blood donors of the Pet Blood Bank at the Clinical Veterinary Hospital of the Córdoba University) and from a control group of other breeds. Complete blood count, blood gas analysis and acid-base balance, electrolytes, dog erythrocyte antigen 1.1, serum biochemistry, serum protein electrophoresis and haptoglobin concentration were measured and compared to assess any differences.

Galgos Españoles had higher haematocrit ( $0.52 \pm 0.05$  L/L), haemoglobin concentration ( $183.63 \pm 19.88$  g/L), erythrocyte count ( $7.63 \pm 0.94 \times 10^{12}$ /L) and pH ( $7.34 \pm 0.03$ ), and lower platelet count ( $200.79 \pm 62.23 \times 10^9$ /L) than those in other-breed dogs (haematocrit =  $0.47 \pm 0.03$  L/L; haemoglobin concentration =  $169.00 \pm 12.90$  g/L; erythrocyte count =  $7.01 \pm 0.71 \times 10^{12}$ /L; pH =  $7.32 \pm 0.04$ ; platelet count =  $267.15 \pm 92.84 \times 10^9$ /L). The prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 positive blood in

Galgos Españoles (51.7%) was similar to the prevalence in otherbreed dogs (55.7%). In serum biochemistry, Galgos Españoles showed higher creatine kinase ( $230.76 \pm 139.14$  U/L), and lower cholesterol ( $170.78 \pm 40.80$  mg/dL) and glucose ( $88.64 \pm 18.19$  mg/dL) than those in other-breed dogs (creatinase =  $153.69 \pm 69.09$  U/L; cholesterol =  $206.16 \pm 50.50$  mg/dL; glucose =  $103.33 \pm 14.20$  mg/dL). In serum protein electrophoresis, they had higher albumin ( $3.54 \pm 0.53$  g/dL) and  $\beta$ -globulins ( $1.90 \pm 0.44$  g/dL), and lower total globulins ( $3.44 \pm 0.51$  g/dL),  $\alpha_2$ -globulins ( $0.54 \pm 0.19$  g/dL) and  $\gamma$ -globulins ( $0.58 \pm 0.18$  g/dL), than those in the control group (albumin =  $2.97 \pm 0.54$  g/dL; total globulins =  $3.91 \pm 0.56$  g/dL;  $\alpha_2$ -globulins =  $1.06 \pm 0.17$  g/dL;  $\beta$ -globulins =  $1.47 \pm 0.36$  g/dL;  $\gamma$ -globulins =  $0.95 \pm 0.34$  g/dL). Moreover, they had slightly higher plasma haptoglobin concentrations ( $1.78 \pm 1.41$  g/L) than those in other dogs ( $0.96 \pm 0.85$  g/L).

These data confirm that Galgos Españoles have significant differences in laboratory test compared with other breeds; however, these breed-specific features are different to those previously described in Greyhounds and other sighthounds. Practitioners need to be aware of these breed-specific differences in order to avoid misdiagnoses when interpreting laboratory results in Galgos Españoles. In addition, the clinicopathological features showed in the Galgo Español could have a significant impact on its selection as blood donor.

# **CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN**

El Galgo Español es una raza canina autóctona de España que pertenece al grupo de los lebreles (sighthounds). Según la Fédération Cynologique Internationale, el Galgo Español está incluido en el grupo 10 (lebreles), sección 3ª (lebreles de pelo corto) junto con el Magyar Agar, el Levriero Italiano, el Azawakh, el Sloughi, el Chart Polski, el Greyhound Inglés y el Whippet. Durante siglos, los lebreles han sido seleccionados genéticamente para su adaptación a la caza y a las carreras deportivas, lo que les confiere características fisiológicas diferentes a las del resto de razas (Parker y col. 2004, Zaldivar-López y col. 2011a). Aunque históricamente el Galgo Español ha sido empleado para la caza de liebres (Fédération Cynologique Internationale), durante la última década se ha incrementado en gran medida el uso de esta raza como animal de compañía. Ello es fundamentalmente debido a la concienciación social y a la labor de numerosas asociaciones en la adopción de aquellos Galgos Españoles que son abandonados al terminar la temporada de caza (Fanjul 2012).

Desde hace años, el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba (HCV UCO) ha colaborado con algunas de estas asociaciones en los cuidados médicos y en la adopción de dichos Galgos Españoles. Algunos de estos Galgos pasaron a formar parte del programa de donación del Banco de Sangre Canino del HCV UCO, cumpliendo una importante labor en el tratamiento de pacientes críticos que requerían transfusiones de hemoderivados. Durante el proceso de selección de donantes se observó con frecuencia que, a pesar de que estos Galgos Españoles estaban aparentemente sanos, a menudo presentaban valores laboratoriales fuera de los intervalos de referencia establecidos para la población canina en general. Aunque son numerosas las referencias que describen variaciones en el análisis laboratorial de los diferentes lebreles (especialmente en el Greyhound) (Hilppo y col. 1986, Zaldivar-López y col. 2011a, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013), hasta la fecha éstas no han sido estudiadas en el Galgo Español. Debido a que todos los lebreles comparten un ancestro común (Parker y col. 2004), previamente ha sido propuesto que las características clinicopatológicas del Greyhound podían ser extrapoladas a otros lebreles (Zaldivar-López 2011a, Campora y col. 2011). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que cada una de las razas que constituyen el grupo de los lebreles



presentan sus propias características específicas de raza y por tanto, la extrapolación de la información descrita en Greyhounds al resto de lebreles puede conducir a errores diagnósticos (Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). Debido a que habitualmente los análisis laboratoriales del Galgo Español se interpretan asumiendo las particularidades del Greyhound y a las consecuencias negativas que esto podría tener en el proceso diagnóstico en caso de que no se cumplieran dichas similitudes, el objetivo de este estudio fue describir las particularidades clinicopatológicas específicas del Galgo Español con respecto a la población canina en general. Además, con el presente estudio se pretende profundizar en el estudio de algunas de las características hematológicas del Galgo Español que podrían tener repercusión en su selección como donante de sangre.

## 1. LOS LEBRELES (SIGHTHOUNDS)

Los lebreles o sighthounds son el conjunto de razas que a lo largo de los siglos se especializaron en la caza gracias a su excelente agudez visual, a diferencia de los sabuesos o scenthounds que lo hicieron por medio de un desarrollado olfato. La Fédération Cynologique Internationale divide los lebreles en 3 secciones; sección 1 o lebreles de pelo largo u ondulado (Galgo Afgano, Saluki y Borzoi); sección 2 o lebreles de pelo duro (Irish Wolfhound y Scottish Deerhound); y sección 3 o lebreles de pelo corto (Galgo Español, Magyar Agar, Levriero Italiano, Azawakh, Sloughi, Chart Polski, Greyhound y Whippet). No obstante, existe controversia en las razas que deben ser incluidas bajo el término lebel. Así, mientras el Basenji, Rhodesian



Chart Polski



Greyhound



Whippet

Ridgeback, Podenco Ibicenco, Pharaoh Hound y Cirneco del Etna también son reconocidos como lebreles por el Canadian Kennel Club, el American Kennel Club (AKC) y la American Sighthound Field Association, no son considerados como tales por la Fédération Cynologique Internationale. Recientes estudios de diversidad genética han demostrado que los lebreles proceden de un mismo antecesor común hace miles de años, probablemente en Oriente Medio, y que son marcadamente diferentes a nivel genético del resto de razas modernas, las cuales fueron creadas hace escasos doscientos años. Estas diferencias genéticas son el resultado de la cría selectiva orientada a la caza desde hace miles de años (Parker y col. 2004 y 2007, Pedersen y col. 2013). Los primeros restos de lebrél fueron encontrados en las excavaciones de Sumer, datadas del 6000-7000 AC (Hole y Wyllie 2007). Se piensa que posteriormente fueron introducidos en Europa y África por comerciantes fenicios hace más de 2500 años. Durante siglos el Sloughi fue empleado en Marruecos para la guardia de rebaños y en el sur del Sahara los tuaregs criaron al Azawakh para cazar gacelas. En la península ibérica, hay indicios de que el Galgo Español fue el resultado de la unión durante siglos de los lebreles de los "galos" llegados con celtas y visigodos, y los lebreles tipo "Sloughi" traídos posteriormente en la invasión árabe a partir del siglo VIII (Salas Melero 1995). Se cree que los celtas también



Galgo Español



Magyar Agar



Levriero Italiano



Azawakh



Sloughi

introdujeron el lebrele en Gran Bretaña en el siglo V o VI DC para la caza de liebres y zorros, dando lugar al Greyhound Inglés. En Irlanda, los lebreles fueron cruzados con razas de mastines creando el Irish Wolfhound, que se convirtió en la raza de la nobleza. En Escocia, el Scottish Deerhound apareció en el siglo XV a partir de antecesores comunes del Greyhound y del Irish Wolfhound, y se especializó en la caza de venado (Barrett 1998). El Whippet apareció en la Inglaterra medieval y ganó popularidad en las clases populares como perro de carreras (Coile 1998). La especialización orientada a la caza de los lebreles a lo largo de los siglos le confirió una serie de particularidades anatómicas específicas. Todos presentan un tórax profundo, una columna vertebral flexible, y unas extremidades largas y musculadas que le permiten alcanzar grandes velocidades. Sus cráneos son dolicocefalos, con una anchura menor al 75-80% de su longitud, lo que le permite tener un campo de visión más amplio hasta 270°. Estudios recientes sugieren que estas razas dolicocefalas presentan un mayor número de células ganglionares en su retina, lo que les permite una mayor sensibilidad para detectar movimientos rápidos en el campo de visión horizontal (McGreevy y col. 2004). Aunque a lo largo de la historia todos estos lebreles se especializaron en actividades de caza, hoy día la mayor parte de ellos se emplean como animales de compañía.



Galgo Afgano



Borzoi



Saluki



Irish Wolfhound



Scottish Deerhound



## 1.1. EL GALGO ESPAÑOL

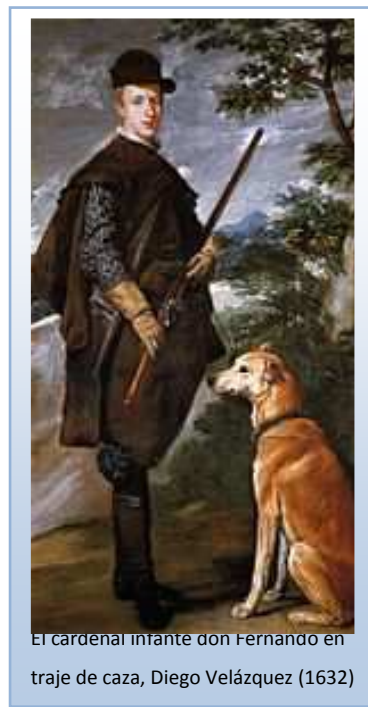
### 1.1.1. HISTORIA DEL GALGO ESPAÑOL

El Galgo Español es una raza autóctona de España y es considerada como una raza pura, es decir, apareció como resultado de la selección selectiva prolongada a lo largo de los siglos. Las primeras referencias del lebrele ibérico aparecen en el tratado romano *Cynegeticus* de Arriano de Nicodemia, datadas del siglo II DC, donde ya se describía la caza de liebres con lebreles españoles como una práctica habitual. Probablemente el Galgo Español fue el producto de la unión durante siglos de los lebreles de los "galos"



Mural en la ermita de San Baudelio de Berlanga (s. XII), Soria.

llegados con celtas y visigodos, y los lebreles tipo "Sloughi" traídos posteriormente por la invasión árabe. Sin embargo, es con la Reconquista, a partir de los siglos IX y X, cuando se colonizaron grandes extensiones de tierra en Castilla y se consolidó la caza de liebres con Galgos Españoles. Durante años fue considerada una raza de elevado valor y numerosas leyes penalizaban su robo o muerte (Fuero de Salamanca, siglo IX; Fuero de Cuenca, Fuero de Zorita de los Canes y Fueros de Molina de Aragón, siglo XII; y Fuero de Usagre, siglo XII). Posteriormente, en el Renacimiento se mantuvo esta tradición cinegética como demuestra la obra "Arte de Ballestería y Montería" de Martínez del Espinar. Grandes representantes de la pintura española como Goya o Velázquez lo retrataron en algunas de sus pinturas, y Cervantes lo referenció en su obra *El Quijote*: "... no ha mucho tiempo que vivía un hidalgo de los de lanza en astillero, adarga antigua, rocín flaco y galgo



El cardenal infante don Fernando en traje de caza, Diego Velázquez (1632)

corredor." (Club Nacional del Galgo Español, Fédération Cynologique Internationale, Salas Melero 1995).

Aparentemente el Galgo Español primitivo se mantuvo intacto hasta el siglo XIX, sin embargo, a principios del siglo XX la burguesía española realizó un importante mestizaje del Galgo Español con el Greyhound Inglés, para conseguir una raza más veloz en los canódromos de moda en esta época en España. Mientras que el Galgo Español era más liviano y fibroso (eminentemente fondista), el Greyhound Inglés era más potente y musculado (eminentemente velocista), por lo que el incremento en la selección genética hacia la velocidad supuso una pérdida de resistencia y rusticidad, y puso en peligro la pureza del Galgo Español. Sin embargo, posteriormente se optó por potenciar nuevamente la actividad cinegética frente a las carreras deportivas, y tras notables esfuerzos, se logró reconducir el mestizaje de la raza a partir de Galgos Españoles "puros" de criadores y cazadores que mantuvieron intacta la línea (Club Nacional del Galgo Español, Fédération Cynologique Internationale, Salas Melero 1995).



Greyhound



Galgo Español

### **1.1.2. EL GALGO ESPAÑOL EN LA CLÍNICA VETERINARIA: IMPORTANCIA COMO ANIMAL DE COMPAÑÍA Y COMO DONANTE DE SANGRE**

Actualmente se estima que existen aproximadamente unos 180.000 galgueros en España y aproximadamente 500.000 Galgos Españoles en todo el país, siendo una de las razas más abundantes a nivel nacional (Club Nacional del Galgo Español). A pesar de su empleo como perro de caza, el Galgo Español ha experimentado un espectacular auge como animal de compañía en las últimas décadas debido a la concienciación social y a la labor de numerosas asociaciones en la adopción de aquellos Galgos Españoles que terminan su vida útil como cazadores o que son abandonados al terminar la temporada de caza (Fanjul 2012). Se estima que anualmente se recogen más de 15.000 Galgos Españoles abandonados al finalizar la temporada de caza, lo que representa el 10,4% de los animales recogidos en protectoras en España, según los resultados del “Estudio sobre Abandono y Adopción 2013” realizado por la Fundación Affinity (2014). Con la creciente popularidad de la adopción de Galgos Españoles abandonados, cada vez es más frecuente que los veterinarios atiendan a dicha raza en la práctica clínica diaria y que los laboratorios de patología clínica reciban más muestras sanguíneas de Galgos Españoles. Es por ello que se considera fundamental conocer las particularidades laboratoriales específicas de la raza para guiar la interpretación analítica y evitar errores en el proceso diagnóstico (Lefebvre 2011). Por otro lado, en los últimos años se ha producido un importante avance en la medicina transfusional en veterinaria y los Galgos Españoles están cumpliendo una importante labor como donantes en los diversos bancos de sangre veterinarios en España (Banco de Sangre Canino del HCV UCO en Córdoba, Centro de Transfusión Veterinario en Madrid y Banco de Sangre Animal en Barcelona). Tradicionalmente, el Greyhound Inglés ha sido considerado como el donante de sangre ideal en los bancos de sangre veterinarios a nivel internacional debido a sus características anatómicas y fisiológicas: un peso superior 25 kg, su conformación anatómica delgada con venas prominentes y fácilmente accesibles, su carácter tranquilo que permite realizar extracciones sanguíneas sin necesidad de sedación, su elevado valor hematocrito, su mayor capacidad de transporte de oxígeno, su baja

prevalencia de antígeno eritrocitario canino (DEA 1.1) y el alto número de individuos que podrían ser considerados donantes universales (Dodds 1994, Kaheler 1994, Huges 2003, Garon y col. 2010, Iazbik y col. 2010). Los Greyhounds también presentan una menor concentración de factor X, fibrinógeno y factor de von Willebrand que otras razas, sin embargo estas diferencias no se consideran suficientemente significativas como para excluir a dicha raza como donante de plasma fresco congelado (Walton y col. 2014). El Galgo Español comparte numerosas características fenotípicas con el Greyhound, por lo que ha sido considerado como el donante de sangre por excelencia en España. Sin embargo, a pesar de su importancia como donante de sangre, hasta la fecha no



existen estudios sobre las características hematológicas del Galgo Español y su prevalencia del grupo sanguíneo DEA 1.1 que permitan caracterizarlo como donante.

## **2. IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS LABORATORIAL. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

### **2.1. INTERÉS Y CONTROVERSIA EN LA ELABORACIÓN DE INTERVALOS DE REFERENCIA ESPECÍFICOS DE RAZA**

Los intervalos de referencia describen las variaciones de un determinado parámetro que pueden ser esperadas en los individuos sanos de una determinada población. Habitualmente, estos intervalos de referencia se usan para interpretar los resultados laboratoriales y guiar el proceso diagnóstico en pacientes individuales. El uso de intervalos de referencia inapropiados puede conducir a dos tipos de errores, bien que un cambio patológico no sea detectado (falso negativo) o que un valor fisiológico sea interpretado como patológico (falso positivo) (Karita y col. 2009, Friedrichs y col. 2012). Debido a la importancia de disponer de intervalos de referencia apropiados, la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) y el Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) establecieron las guías para la elaboración y validación de los intervalos de referencia en medicina humana (IFCC-CLSI Guidelines C28-A3 2008). Posteriormente estas guías han sido adaptadas a medicina veterinaria por la American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (Friedrichs y col. 2012).

En medicina humana está ampliamente reconocido que el origen geográfico y la raza modifican significativamente los valores de normalidad en los parámetros laboratoriales, por lo que habitualmente los intervalos de referencia son establecidos para las diferentes subpoblaciones (Bain y col. 1984, Bain 1996, Horn y Pesce 2002, Karita y col. 2009). En perros, la cría selectiva para el mantenimiento de las razas ha dado lugar a un fuerte aislamiento genético, existiendo un 27% de variación genética total entre diferentes razas caninas, en comparación con tan sólo el 5-10% de variación que existe entre las población humana (Parker y col. 2004). Es por ello que actualmente en medicina veterinaria se están desarrollando numerosos estudios para valorar la variabilidad en el análisis laboratorial presente en diferentes razas como es el caso del Boyero de Berna, Alaskan Malamute, Husky Siberiano, Golden Retriever,



Setter Inglés, Pastor Alemán, Dogo de Burdeos, Beagle y en diferentes lebreles (Cramer y col. 1969, Lund y col. 2000, Harper y col. 2003, Nielsen y col. 2009, Sharkey y col. 2009, Zaldívar-López y col. 2011a, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013, Lavoue y col. 2013, 2014).

Aunque cada vez existe un mayor interés en establecer intervalos de referencia específicos de raza (Sharkey y col. 2009, Nielsen y col. 2009, Campora y col. 2011, Lavoue y col. 2014), seleccionar una población de referencia homogénea y representativa de la raza para determinar dichos intervalos puede resultar difícil (Geffré y col. 2009, Bourge`s-Abella y col. 2011, Lavoue y col. 2014). La ASVCP aboga por el establecimiento de intervalos de referencia mediante métodos no paramétricos utilizando al menos 120 individuos para cada parámetro (Friedrichs y col. 2012). Por desgracia, en medicina veterinaria puede ser difícil lograr estos tamaños de muestra para cada raza y al mismo tiempo garantizar la calidad de los datos (Geffré y col. 2009). Existen numerosos factores que pueden afectar a la calidad de la muestra como el estado de salud, la edad, el sexo, la actividad física, el estilo de vida, la alimentación, el estatus reproductivo, el estado sanitario (Rautenbach y col. 1987 y 1988, Sharkey y col. 2009, Nielsen y col. 2009, Lavoue y col. 2014), la región geográfica (Bourge`s-Abella y col. 2011), la estación del año (Sothorn y col. 1993), el lugar de venopunción (Jensen y col. 1994), el procesado de la muestra, el porcentaje de hemólisis y lipemia, la metodología del análisis laboratorial o los equipos analíticos empleados (Weiser 2012). Todas estas variables deberían ser consideradas para establecer criterios de inclusión y exclusión adecuados, lo cual podría limitar enormemente el número de individuos útiles para establecer intervalos de referencia. Además, los valores atípicos obtenidos (aquellos que no siguen la distribución subyacente y que introducen valores extremos) deben ser identificados y corregidos, ya que la presencia de éstos puede suponer una importante fuente de error en el cálculo de intervalos de referencia, lo que podría limitar aún más el tamaño de la muestra (Friedrichs y col. 2012). A las limitaciones existentes para conseguir una adecuada población de referencia, se une que estos intervalos de referencia únicamente podrían ser adoptados por aquellos laboratorios que utilicen el mismo

equipo y los mismos procedimientos analíticos. En aquellos casos que no sea posible conseguir tales tamaños de muestra, aun se podrían calcular los intervalos de referencia con un menor número de animales (40-120 individuos) mediante el método robusto o mediante métodos paramétricos si disponemos de muestras de elevada calidad, sin embargo esto incrementará la incertidumbre de los límites de referencia calculados (Geffre y col. 2009).

Por otro lado, actualmente se desconoce cuál es el valor clínico real de establecer intervalos de referencia específicos para cada raza (Concordet y col. 2008, Sharkey y col. 2009, Nielsen y col. 2009, Lavoue y col. 2014). En este sentido, varios autores defienden que sólo tendría sentido llevar a cabo estudios a gran escala para establecer nuevos intervalos de referencia en aquellas razas en las que previamente se hayan establecido diferencias significativas para un determinado parámetro en estudios preliminares (Harris 1990, Lefebvre 2011, Campora y col. 2011). Sin embargo, según Lefebvre (2011) si existe una “obligación profesional” por parte de los patólogos clínicos de realizar estos estudios preliminares que permitan examinar potenciales diferencias analíticas de las diferentes razas respecto a la población canina en general, y solo cuando la relevancia clínica sea suficiente, establecer valores de referencia específicos de raza.

## **2.2. IMPORTANCIA DEL HEMOGRAMA. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

El hemograma evalúa la cantidad y las cualidades de las diferentes poblaciones celulares de la sangre. Los parámetros que estudia son el recuento total de eritrocitos (RBC), concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Htc), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), recuento total de leucocitos, recuento diferencial de leucocitos y recuento plaquetario (Stockham y Scott, 2008).

El Htc, RBC y Hb informan sobre la cantidad de eritrocitos existente en la sangre. Un descenso en el número de glóbulos rojos (disminución del Htc, RBC y Hb) se define como anemia, mientras que un aumento en el número de glóbulos rojos

(aumento del Htc, RBC y Hb) se define como eritrocitosis. La eritrocitosis puede ser indicativa de deshidratación, contracción esplénica, policitemia vera, hipoxia, neoplasia y enfermedad renal, sin embargo, un reciente estudio demostró que el Dogo de Burdeos presenta de manera fisiológica mayor Htc, RBC y Hb comparado con la población canina general (Lavoué y col. 2014). Otras razas como el Caniche miniatura, Pastor Alemán, el Bóxer o el Chihuahua también se han descrito como razas con un mayor Htc que el resto sin que exista una asociación con estados patológicos (Stockham y Scott 2008).

El MCV da información sobre el volumen medio de los eritrocitos expresado en fentolitros (fl). Un aumento del MCV puede ser debido a anemia regenerativa, mielodisplasia o un retraso en el procesado de la muestra, sin embargo, también se ha descrito la presencia de macrocitosis específica de raza en el Caniche miniatura y en el Dogo de Burdeos que carece de significado patológico (Thrall 2012, Lavoué y col. 2014). Estos Caniches miniatura tienen un recuento de RBC que está por debajo de los intervalos de referencia estándar, pero debido al gran tamaño de los eritrocitos, el Htc es normal. Otras alteraciones específicas de raza, como la estomatocitosis hereditaria presente en el Alaskan Malamute, en el Schnauzer miniatura o en el Drentse Partijshond, también pueden producir cambios en la morfología de los eritrocitos que inducen a un aumento del MCV (Thrall 2012). Por el contrario, una disminución del MCV puede ser debido a anemias por déficit de hierro o a shunts portosistémicos, pero también puede ser específica de raza en el Chow Chow, Shar Pei, Akita Inu (Thrall 2012) y Shiba Inu (Gookin y col. 1998), en cuyo caso no tiene importancia patológica.

La MCH y MCHC dan información sobre el contenido de Hb de los eritrocitos. Un aumento de MCH y MCHC suele deberse a un artefacto por lipemia, hemólisis o presencia de cuerpos de Heinz (oxidación de la Hb) ya que un hematíe no puede contener una concentración de hemoglobina mayor de la fisiológica. Sin embargo, el Boyero de Berna y el Dogo de Burdeos presentan una MCHC fisiológica por encima de los descritos para la población canina en general (Nielsen y col. 2009, Lavoué y col. 2014).

El leucograma consiste en el estudio de los glóbulos blancos o leucocitos, que forman parte del sistema inmunológico como elementos de defensa frente a agentes infecciosos y otras sustancias extrañas. Un aumento en el recuento de leucocitos por encima del límite superior se denomina leucocitosis y puede ser indicativo de enfermedad infecciosa, inflamatoria, inmunomediada, neoplásica o ser una respuesta fisiológica. Sin embargo, determinadas poblaciones leucocitarias podrían estar aumentadas en individuos sanos de determinadas razas, como el Boyero de Berna, el Pastor Alemán o el Rottweiler, que presentan un mayor recuento de eosinófilos que la población canina en general (Lilliehook y Tvedten 2003, Nielsen y col. 2009). Un descenso en el recuento de leucocitos se denomina leucopenia y podría ser indicativo de sepsis, enfermedad inmunomediada o alteraciones de la médula ósea, pero también podría ser fisiológico en el Pastor Belga Tervuerense (Gommeren y col. 2006).

Las plaquetas intervienen en el proceso de hemostasia primaria al tener la capacidad de adherirse al endotelio de la pared vascular dañada formando el trombo primario inestable. Un descenso del número de plaquetas se denomina trombocitopenia y puede ser indicativo de descenso de la producción, destrucción inmunomediada, consumo excesivo o destrucción no inmunomediada, secuestro esplénico o artefacto por agregados plaquetarios (Stockham y Scott, 2008). Sin embargo, la trombocitopenia podría ser fisiológica en el Cavalier King Charles y el Dogo de Burdeos, los cuales presentan macrotrombocitopenia asintomática específica de raza (Smedile y col. 1997, Pedersen y col. 2002, Singh y col. 2005, Bertazzolo y col. 2007, Lavoué y col. 2014).

### **2.2.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN EL HEMOGRAMA DE LOS LEBRELES**

La gran mayoría de lebreles estudiados hasta el momento (Greyhound, Whippet, Galgo Afgano, Levriero Italiano, Saluki, Azawakh, Borzoi y Sloughi) tienen una mayor masa eritroide (mayor Htc, recuento de RBC y concentración de Hb) que los perros de otras razas (Porter and Canaday 1971, Heneghan 1977, Hilppo 1986, Sullivan y col. 1994, Steiss y col. 2000, Shiel y col. 2007, Zaldívar-López 2011a, Campora y col.

2011, Uhrikovay col. 2013, Shereer y col. 2013). Esta particularidad específica de los lebreles probablemente se desarrolló como una adaptación fisiológica para un mayor rendimiento atlético y una mayor capacidad de transporte de oxígeno en momentos de máxima demanda (Heneghan 1977, Zaldívar-López 2011a). Sin embargo, no todos los lebreles cumplen dicha particularidad, ya que el Irish Wolfhound tiene valores hematológicos similares a los de la población canina en general (Clark y Parry 1997).

Se ha observado que la masa eritroide aumenta significativamente durante el ejercicio físico debido a la contracción esplénica, a la liberación de eritrocitos de la médula ósea y a la hemoconcentración (Snow y col. 1988, Rose y col. 1989, Nold y col. 1991, Neuhaus y col. 1992, Sullivan y col. 1994, Shiel y col. 2007), por lo que inicialmente se propuso que la mayor masa eritroide en los lebreles podría estar asociada al entrenamiento orientado al ejercicio físico intenso (Heneghan 1977). Sin embargo, posteriormente Shiel y col. (2007) demostraron que los Greyhounds de nueve meses de edad no entrenados ya presentaban un Htc, concentración de Hb y recuento de RBC similares a los de los individuos adultos, por lo que se concluyó que esta característica no estaba relacionada con el entrenamiento físico. Actualmente se considera que la mayor masa eritroide y las particularidades específicas de la hemoglobina de los Greyhounds son consecuencia de la cría selectiva y la selección genética orientada al deporte (Sullivan y col. 1994, Zaldívar-Lopez y col. 2011b). El Greyhound presenta una menor P50 de la Hb (presión parcial de oxígeno a la que el 50% de la hemoglobina está saturada de oxígeno) que otras razas, lo que conlleva una desviación a la izquierda en la curva de disociación de la oxihemoglobina y una mayor afinidad de la Hb por el oxígeno. La mayor afinidad de la Hb por el oxígeno podría dar lugar a una menor liberación de oxígeno a nivel tisular y por tanto, a un estado de hipoxia crónico que estimularía una mayor producción de eritropoyetina y una mayor masa eritroide (Sullivan 1994, Zaldívar-López y col. 2011b). Al mismo tiempo, la mayor afinidad de la Hb por el oxígeno podría tener beneficio durante el ejercicio físico intenso, ya que la presencia de oxígeno a nivel tisular profundo (p.e. a nivel capilar muscular) evitaría la vasoconstricción asociada a la hipoxia y favorecería la liberación de oxígeno a estos niveles donde la tensión de oxígeno es menor (Dimio y col. 2007,

Vandegriff y Winslow 2009, Zaldivar-López y col. 2011b). Bhatt y col. (2011) describieron la estructura molecular de la Hb en el Greyhound determinando que presenta mutaciones en la cadena de aminoácidos y alteraciones en la posición de las cadenas proteicas que podrían justificar la elevada afinidad de esta por el oxígeno.

Estudios previos han demostrado que el Greyhound, el Whippet y el Scottish Deerhound presentan un mayor MCV que la población canina en general (Hill y col. 2001a, Shiel y col. 2007, Campora y col. 2011, Sheerer y col. 2013, Uhrikovay col. 2013). Por el contrario, el MCV está dentro de intervalos de referencia en Sloughis, Azawakhs y Levrieros Italianos (Uhrikovay col. 2013). Previamente se propuso que el mayor MCV en algunos lebreles podría estar relacionado con una menor vida media de los eritrocitos y un mayor porcentaje de células inmaduras en sangre (Novinger y col. 1996, Sheerer y col. 2013). La vida media de los eritrocitos no ha sido estudiada en Scottish Deerhounds y en Whippets, sin embargo existen dos estudios que han valorado la vida media de los eritrocitos en el Greyhound y que muestran resultados contradictorios (Novinger y col. 1996, Garon y col. 2010). En el primero de ellos, Novinger y col. (1996) determinaron que la vida media de los eritrocitos era menor en Greyhounds que en otras razas (medias de 53.6 días y 104.3 días respectivamente), atribuyendo estas diferencias a posibles variaciones en la estructura de la membrana plasmática que podrían originar una rápida eliminación de los eritrocitos de la circulación. Sin embargo, en el estudio realizado posteriormente por Garony col. (2010) no se encontraron diferencias significativas en la vida media de los eritrocitos del Greyhound (media de 93 días), respecto a otras razas (media de 103 días). Además, el recuento de reticulocitos no difiere en Greyhounds ni en Scottish Deerhounds respecto al de otras razas (Lassen y col. 1986, Sullivan y col 1994, Sheerer y col. 2013), por lo que actualmente se desconoce cuál es la causa del aumento de MCV en Greyhounds y otros lebreles.

Varias razas de lebreles también presentan particularidades específicas en el leucograma. Así, el Greyhound y el Whippet, presentan un menor recuento leucocitario que otras razas (Porter y Canaday 1971, Neuhaus y col. 1992, Steiss y col. 2000, Shiel y col. 2007, Campora y col. 2011, Uhrikovay col. 2013). Por el contrario,

Borzois y Sloughis presentan recuentos leucocitarios dentro de intervalos de referencia para la población canina en general (Uhrikovay col. 2013). Además, los eosinófilos de Greyhounds, Levrieros Italianos, Whippets, Borzois y Scottish Deerhounds presentan una morfología específica con gránulos citoplasmáticos que no se tiñen (“vacuolated” o “grey eosinophils”) (Iazbik y Couto 2005, Shiel y col. 2007, Giori y col. 2011, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). Iazbik y Couto (2005) evaluaron las características ultraestructurales y citoquímicas de los eosinófilos en Greyhounds y concluyeron que dichos gránulos están presentes en al menos un 50% de los Greyhounds cuando los frotis son teñidos con tinciones de Wright. Además, un 85% de los Greyhounds que presentan gránulos normales con tinciones de Wright, también presentan eosinófilos vacuolados cuando los frotis son teñidos con Diff-Quik. Estos eosinófilos no presentan cambios morfológicos, ultraestructurales, ni citoquímicos, lo que sugiere que la presencia de eosinófilos vacuolados únicamente responde a propiedades tintoriales de los eosinófilos en esta raza (Iazbik y Couto 2005, Giori y col. 2011). Se ha postulado que la posible causa de las propiedades tintoriales de los eosinófilos es la alteración en las proteínas básicas de los gránulos o un mayor pH de los gránulos, lo cual implicaría una menor tinción de eosina en las tinciones tipo Romanowsky (Iazbik y Couto 2005, Giori y col. 2011). La importancia clínica de la presencia de estos eosinófilos reside en la incapacidad de los analizadores automatizados para clasificar correctamente los eosinófilos en los lebreles, y en la posibilidad de que el clínico los interprete como neutrófilos tóxicos o monocitos vacuolados en el frotis sanguíneo (Iazbik y Couto 2005, Giori y col. 2011).

La mayoría de lebreles estudiados hasta el momento (Greyhound, Whippet, Galgos Afganos, Levrieros Italianos, Salukis, Borzois, Sloughis y Scottish Deerhound) pueden presentar recuentos plaquetarios por debajo de los rangos fisiológicos establecidos para otras razas (Sullivan y col. 1994, Steiss y col. 2000, Couto y col. 2006, Santoro y col. 2007, Shiel y col. 2007, Campora y col. 2011, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). Por el contrario, tan solo un 10% de los Azawakhs presentan trombocitopenia fisiológica (Uhrikova y col. 2013). Los mecanismos propuestos para explicar un menor recuento plaquetario en los lebreles son: error laboratorial asociado

a la técnica de recuento, secuestro esplénico y/o pulmonar, destrucción inmunomediada subclínica, una correlación negativa con los depósitos de hierro y la teoría de competición de las células madre bipotenciales. Santoro y col. (2007) demostraron que el recuento plaquetario en el Greyhound es menor que en otras razas (media de 190.000 plaquetas/mcl y 260.000 plaquetas/mcl respectivamente) independientemente de la técnica empleada (impedancia, buffy coat y recuento manual). La presencia de procesos inmunomediados subclínicos también fue descartada en el Greyhound debido a la ausencia de IgG en la superficie de las plaquetas (Santoro y col. 2007). Kadikoylu y col. (2006) demostraron que en mujeres el número de plaquetas está inversamente relacionado con los depósitos de hierro existentes. Si esta característica se cumple también en el perro, una elevada concentración de depósitos de hierro en los lebreles podría justificar un bajo recuento plaquetario (Zaldívar-Lopez y col. 2011a). Por último, la teoría de competición de las células madre bipotenciales trata de explicar la correlación negativa existente entre el número de plaquetas y el valor Htc en los lebreles. Las células madre responden a estímulos hormonales y se diferencian en precursores de eritrocitos o megacariocitos según la necesidad, de manera que el aumento de una de las líneas celulares conllevaría el descenso de la otra. En este sentido, el desvío a la izquierda de la curva de disociación de la oxihemoglobina descrito en los Greyhounds podría dar lugar a una hipoxiocrónica moderada, y por tanto a un aumento en la producción de eritropoyetina y de la eritropoyesis, a expensas de una menor megacariopoyesis (Sullivan y col. 1994, Shiel y col. 2007, Zaldivar-López 2011a y b).

## **2.3. IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS DE GASES Y EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE.**

### **VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

El análisis de gases sanguíneos se realiza mediante el estudio de parámetros como la presión parcial de oxígeno ( $pO_2$ ), saturación de oxígeno ( $SO_2$ ), oxihemoglobina ( $O_2Hb$ ), hemoglobina total (tHb), contenido total de oxígeno ( $CtO_2$ ) y capacidad total de oxigenación ( $CapO_2$ ), de forma que mayores valores serán indicativos de una mayor capacidad de oxigenación de la sangre. Aunque es más frecuentemente emplear



sangre arterial para valorar la oxigenación, las muestras venosas también pueden ser empleadas para valorar la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, ya que esta viene determinada por el pH, la temperatura, el CO<sub>2</sub> y el 2,3- DPG, y por tanto la afinidad no debería variar entre muestras venosas y arteriales (Wimberley y col. 1991, Zaldívar-López y col. 2011b).

El mantenimiento del equilibrio ácido-base es fundamental para la vida y depende de una adecuada función respiratoria y renal. Un desequilibrio en estos sistemas puede dar lugar a alteraciones del balance ácido-base. Así, la acidosis y la alcalosis se definen como los procesos fisiopatológicos que conducen al acúmulo de ácidos o bases en el organismo respectivamente, y que pueden conducir a situaciones de acidemia o alcalemia (variaciones del pH sanguíneo fuera del rango de normalidad). Para el análisis del balance ácido-base es imprescindible la adecuada interpretación de los siguientes parámetros: pH, presión parcial de dióxido de carbono (pCO<sub>2</sub>), bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), exceso de base (BE) y anion gap (AnGap). El pH nos permite clasificar la alteración como acidemia o alcalemia, y sus variaciones compatibles con la vida son muy limitadas, siendo el rango posible en el perro entre 6,8-7,8 (Dibartola y col. 2000). La pCO<sub>2</sub> y el HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos permiten valorar el estado respiratorio y metabólico. La respiración modifica la pCO<sub>2</sub> que representa la acidez volátil, mientras que la función renal regula la excreción de hidrogeniones y la reabsorción de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. El BE se define como la cantidad necesaria de base (o ácido) fuerte necesario para pasar 1L de sangre en condiciones estándar (oxigenada al 100%, con pCO<sub>2</sub> 40 mm Hg y a 37° C) a un pH = 7,4. Así, la interpretación conjunta de la pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y BE, nos permitirá clasificar el desequilibrio ácido-base primario en alcalosis respiratoria, acidosis respiratoria, alcalosis metabólica o acidosis metabólica, y nos permitirá determinar si la respuesta compensatoria del organismo es la adecuada. Por último, el estudio del AnGap valora la diferencia existente entre los cationes y aniones medidos en el plasma, y clasifica la acidosis metabólica en tipos: acidosis metabólica normoclorémica y acidosis metabólica hiperclorémica (Wimberley y col. 1991, Dibartola y col. 2000).

Hace cuarenta años Komárek y col. (1975) describieron las primeras diferencias en el equilibrio ácido-base asociadas a la raza, demostrando que los Beagles tienen

menor pH y BE que los Pastores Alemanes. Sin embargo, no son abundantes las publicaciones realizadas hasta la fecha en este área. Otro estudio encontró diferencias significativas en el  $\text{HCO}_3^-$  entre el Husky Siberiano, el Alaskan Malamute, el Setter Inglés y el Golden Retriever. El Husky Siberiano presentó la menor concentración de  $\text{HCO}_3^-$ , mientras que el Setter Inglés la mayor, sin embargo las diferencias fueron consideradas poco importantes desde el punto de vista clínico al ser poco probable que influyesen en el manejo del paciente (Sharkey y col. 2009). También se ha demostrado que las razas braquicefálicas, debido a la obstrucción parcial crónica en sus vías respiratorias altas, presentan menor  $\text{PO}_2$  y mayor  $\text{PCO}_2$  que las razas no braquicefálicas. Como mecanismo compensatorio a estas variaciones, las razas braquicefálicas presentan mayor  $\text{HCO}_3^-$ , mayor Hb y menor AnGap, por lo que no se aprecian diferencias significativas en el pH ni en la  $\text{SO}_2$  (Hoareau y col. 2012). Un estudio reciente estableció nuevos intervalos de referencia específicos del Dogo de Burdeos para el análisis de gases y equilibrio ácido-base venoso ( $\text{tCO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , pH venoso,  $\text{pCO}_2$  y AnGap). Este estudio mostró una leve tendencia a la alcalemia en dicha raza, con un 24% de los animales con valores de pH por encima del intervalo superior establecido para la población canina general. Sin embargo, la mayor parte de los nuevos intervalos de referencia se consideraron similares a los establecidos para el resto de las razas y con poca probabilidad de influir en la interpretación de los valores laboratoriales de dicha raza (Lavoue y col. 2013).

### **2.3.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN EL ANÁLISIS DE GASES Y EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE DE LOS LEBRELES**

En lo referente al análisis de gases y equilibrio ácido-base, el Greyhound ha sido principalmente estudiado desde el punto de vista de la fisiología del ejercicio, valorando los cambios durante y después del ejercicio (Lassen y col. 1986, Ilkiw y col. 1989, Rose y Bloomerg 1989, Nold y col. 1991). Sin embargo, en condiciones de reposo, el Greyhound también presenta particularidades específicas con respecto a otras razas. Así, esta raza presenta un aumento de la concentración total de  $\text{CO}_2$  y una mayor concentración de  $\text{HCO}_3^-$  que otras razas, lo cual se podría asociar a alcalosis

metabólica (Steiss y col. 2000, Zaldívar-López y col. 2010). Además el Greyhound presenta mayor pH, PO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>Hb, tHb, CtO<sub>2</sub> y CapO<sub>2</sub>, y menor deoxihemoglobina y P50 de la Hb que los perros de otras razas (Sullivan y col. 1994, Zaldivar-López 2011b). Por el contrario, no existen diferencias significativas en el 2,3-DPG entre Greyhounds y otras razas (Sullivan y col. 1994). Estos resultados confirman que esta raza es capaz de transportar una mayor concentración de oxígeno en la sangre (mayor PO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>Hb, tHb, O<sub>2</sub>Ct y O<sub>2</sub>Cap), y que además presenta un desplazamiento a la izquierda en la curva de disociación de la Hb y una mayor afinidad de la Hb por el oxígeno (menor P50 debido a un mayor pH y menor CO<sub>2</sub>) (Sullivan y col. 1994, Zaldivar-López 2011). La mayor afinidad de la Hb por el oxígeno podría suponer un estado de hipoxia crónico (Gonzalez-Fernández y col 2009) que justificaría la mayor masa eritroide en esta raza por un incremento de la producción de eritropoyetina y de la eritropoyesis (Sullivan y col. 1994, Semenza 2009). Además, una alta afinidad de la Hb por el oxígeno en esta raza podría ser beneficiosa para la oxigenación de tejidos profundos durante el ejercicio intenso, ya que la presencia de oxígeno a estos niveles suprime la vasoconstricción periférica asociada a la falta de oxígeno. Por el contrario, en individuos de otras razas con una menor afinidad por el oxígeno, éste se libera a nivel arteriolar antes de alcanzar los capilares sanguíneos profundos (Winslow 2005, Dimio y Palmer 2007).

Zaldívar-Lopez y col. (2011c) realizaron estudios de análisis de gases venosos en el Galgo Español, y describieron que esta raza también muestra valores fuera de los intervalos de referencia inespecíficos de raza. Su estudio evidenció en esta raza una mayor concentración de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, pCO<sub>2</sub>, dióxido de carbono total (CO<sub>2</sub>t), tHb y O<sub>2</sub>Ct, y un menor pH y P50 de la Hb que los perros de otras razas. Así, al igual que ocurre en el Greyhound, la elevada concentración de tHb y O<sub>2</sub>Ct observadas en el Galgo Español podrían reflejar una mayor eficiencia en el transporte de oxígeno (Zaldívar-Lopez y col. 2011c); y una menor P50 de la Hb podría ser beneficioso para la oxigenación tisular a nivel capilar durante el ejercicio intenso (Winslow 2005, Dimio y Palmer 2007). No han sido publicados otros datos sobre equilibrio acido-base y análisis de gases en otros

lebreles, y únicamente Sheerer y col. (2013) mostraron que los Scottish Deerhounds presentan un  $\text{HCO}_3^-$  similar al de otras razas.

#### **2.4. IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS DE ELECTROLITOS. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

El sodio es el principal responsable de la osmolalidad del fluido extracelular, controla el paso de fluidos entre los espacios intracelular y extracelular y el mantenimiento del volumen vascular. La hipernatremia puede estar causada por deshidratación (privación de agua, alteración del centro de la sed, jadeo, fiebre, hiperventilación, diabetes insípida central o nefrogénica, diuresis osmótica, vómitos o diarrea), o por un aumento en la ganancia de sodio (intoxicación por sal, administración de suero salino hipertónico, hiperadrenocorticismos o hiperaldosteronismo). La hiponatremia puede resultar de la pérdida excesiva de sodio (pérdida gastrointestinal, renal o en el tercer espacio), condiciones asociadas a la dilución del sodio por exceso de retención de agua (fallo cardíaco congestivo, enfermedad renal, sobrehidratación o hiperglucemia), o ser artefactual por lipemia o hiperproteinemia marcadas (Dibartola y col. 2000). Aunque son pocos los estudios que han valorado la influencia de la raza en los niveles de sodio, un estudio reciente estableció nuevos intervalos de referencia para el sodio en el Dogo de Burdeos, y aunque el límite de referencia inferior fue ligeramente superior al de la población canina general, es poco probable que la aplicación de intervalos de referencia específicos de raza para el sodio en esta raza tenga una gran relevancia clínica (Lavoue y col. 2013). Otro estudio valoró la diferencia en la concentración de sodio entre el Husky Siberiano, Alaskan Malamute, Golden Retriever y Setter Inglés, y aunque se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre dichas razas, parece poco probable que influyan en el proceso diagnóstico en estas razas (Sharkey y col. 2009). De la misma forma, los intervalos de referencia de sodio para la población canina general fueron validados en el Boyero de Berna, lo que indica la falta de necesidad de establecer intervalos de referencia para el sodio específicos en dicha raza (Nielsen y col. 2010).

El cloro es el anión extracelular más abundante y su concentración habitualmente fluctúa junto a la concentración sérica de sodio para mantener la electroneutralidad. Cuando el aumento de cloro no está asociado a hipernatremia sugiere la existencia de acidosis metabólica, diabetes mellitus, hiperaldosteronismo, hipoadrenocorticismos, acidosis tubular renal o síndrome de Fanconi. Además, puede aparecer hipercloremia artefactual en animales con lipemia o tratados con bromuropotásico (el bromuro es medido como cloro por el analizador). Puede haber una hipocloremia independiente del sodio en casos de vómito de contenido gástrico (obstrucción pilórica), con el consecuente desarrollo de alcalosis metabólica (Dibartola y col. 2000). De la misma forma que para el sodio, no parece que la raza tenga una gran influencia en los valores de séricos de cloro. Así, los intervalos de referencia específicos del Dogo de Burdeos son similares a los de otras razas (Lavoue y col. 2013) y no se encontraron diferencias significativas en los niveles de cloro entre Husky Siberianos, Alaskan Malamutes, Golden Retrievers y Setter Ingleses (Sharkey y col. 2009).

El potasio es el catión más importante a nivel intracelular, con un 95-98% del potasio total corporal localizado en el espacio intracelular. Los niveles de potasio son regulados fundamentalmente a nivel renal. Éste es libremente filtrado por los riñones, reabsorbiéndose la gran mayoría por los túbulos proximales y el asa de Henle. Aproximadamente el 10%-15% del potasio alcanza el túbulo contorneado distal, el cual es el mayor regulador de la excreción del potasio. Una segunda vía para la excreción de potasio es el colon. La hipokalemia se puede producir por disminución del ingreso de potasio, translocación del potasio del fluido extracelular al fluido intracelular (alcalosis, administración de insulina o beta-agonistas) o por una excesiva pérdida gastrointestinal o renal (enfermedad renal crónica, hiperadrenocorticismos, diabetes mellitus o hiperaldosteronismo). La hiperkalemia puede resultar de un incremento en el ingreso de potasio, translocación de potasio del fluido intracelular hacia el fluido extracelular (acidosis metabólica, administración de beta-bloqueantes, síndrome de lisis tumoral o síndrome de realimentación), por una disminución en la excreción de potasio (enfermedad renal post-renal, fallo renal agudo, hipoadrenocorticismos,

hipoaldosteronismo o administración de inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina, espironolactona, amilorina, entre otras causas), o por artefactos (hemólisis, contaminación con EDTA, leucocitosis o trombocitosis) (Phillips and Polzin 1998, Dibartola y col. 2000). Los intervalos de referencia específicos del Dogo de Burdeos para el potasio, aunque con un rango más estrecho, son similares a los de otras razas (Lavoue y col. 2013). Un estudio previo encontró diferencias significativas en la concentración de potasio entre Husky Siberianos, Alaskan Malamutes, Golden Retrievers y Setter Ingleses. El Husky Siberiano y el Alaskan Malamute presentaron intervalos de referencias similares a los inespecíficos de raza, sin embargo, el Golden Retriever presentó un menor límite de referencia inferior, y el Setter Ingles un mayor límite de referencia superior a los establecidos para la población general (Sharkey y col. 2009). Nielsen y col. (2009) demostraron que los intervalos de referencia del potasio para la población canina general son válidos para su aplicación en el Boyero de Berna (Nielsen y col. 2010).

La concentración de calcio está regulada por el calcitriol, la hormona paratiroidea y la calcitonina. La hipercalcemia puede ser el resultado del incremento de la reabsorción de calcio óseo, descenso en la excreción renal de calcio o del incremento en la absorción gastrointestinal. Algunas de las causas mas comunes de hipercalcemia son linfoma, adenocarcinoma de sacos anales, mieloma múltiple, neoplasias óseas, hipoadrenocorticismo, fallo renal, osteomielitis, hipervitaminosis D, lipidemia, enfermedad granulomatosa o hipertiroidismo primario. La hipocalcemia puede ser resultado de eclampsia puerperal, hipoalbuminemia, fallo renal, pancreatitis, intoxicados con etilenglicol, rbdomiolisis, síndrome de lisis tumoral o hipoparatiroidismo. No obstante, una menor concentración de calcio iónico podría presentarse de forma fisiológica en el Dogo de Burdeos (Lavoue y col. 2013). En el estudio de Sharkey y col. (2009) tan solo se encontró diferencias significativas en los niveles de calcio entre el Golden Retriever y el Alaskan Malamute, y entre el Golden Retriever y el Setter Inglés, sin embargo los autores consideraron que estas diferencias eran poco relevantes desde el punto de vista clínico. Los intervalos de referencia de calcio para la población canina general también han sido validados en el Boyero de

Berna, lo que indica la falta de necesidad de establecer intervalos de referencia específicos para el calcio en dicha raza (Nielsen y col. 2010).

#### **2.4.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN EL ANÁLISIS DE ELECTROLITOS DE LOS LEBRELES**

Hasta la fecha, los únicos lebreles en los que se ha estudiado sus particularidades específicas en la concentración de electrolitos han sido el Greyhound, el Galgo Español y el Scottish Deerhound. El Greyhound presenta mayores concentraciones de sodio y cloro, y menor concentración de potasio que otras razas (Porter y Canaday 1971, Egan 1977, Lassen y col. 1986, Steiss y col. 2000, Zaldívar-López y col. 2010). Se ha observado que en Greyhounds de competición, durante la temporada de carreras, se produce una disminución del calcio total sin llegar a valores inferiores de los intervalos de referencia generales (Lassen y col. 1986). Autores como Zaldívar-López y col. (2010) y Dunlop y col. (2010) señalaron que la concentración de calcio total y calcio ionizado en Greyhounds retirados de la competición también era inferior a la de otras razas.

En el Galgo Español no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de sodio y potasio, sin embargo, presentaron una menor concentración de cloro con respecto a otras razas (Zaldívar-López y col. 2011c).

En el estudio realizado por Sheerer y col. (2013) el 7% y 17% de los Scottish Deerhounds estudiados presentaron una concentración de sodio y potasio respectivamente, por encima de los valores de referencia establecidos para la población general, mientras que el 63% y 27% de la población estudiada presentaron una concentración de calcio y cloro respectivamente, por debajo de los valores de referencia. La baja concentración de calcio presente en el Scottish Deerhound también ha sido descrita en otros lebreles (Zaldívar-López y col. 2011a, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). Las causas potenciales de esta hipocalcemia podrían ser una deficiencia de vitamina D, una disminución de la ingesta de calcio o la disminución de su reabsorción renal. Sin embargo, estas causas se consideraron poco probables ya

que la concentración de fósforo estuvo dentro de los valores de referencia en el 99% de los individuos del estudio (Sheerer y col. 2013). La edad fue descartada como causa de la hipocalcemia, ya que la mayor parte de los individuos del estudio fueron adultos. La hipoalbuminemia también puede resultar en una disminución de la concentración de calcio total, pero ninguno de los Scottish Deerhounds presentó una disminución en la concentración de albúmina. Por lo tanto, es probable que la disminución de la concentración de calcio en el Scottish Deerhound sea una variación específica de dicha raza (Sheerer y col. 2013). En el Greyhound, el Whippet y el Borzoi también ha sido descrita una baja concentración de calcio, por lo que probablemente se trate de una particularidad específica de la mayor parte de los lebreles (Dunlop y col. 2011, Zaldivar-López et al. 2011a, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013).

## **2.5. IMPORTANCIA DEL ANTÍGENO ERITROCITARIO CANINO (DEA) 1.1. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

Los grupos sanguíneos caninos vienen determinados por glicolípidos y glicoproteínas de la superficie de los eritrocitos que se denominan Antígenos Eritrocitarios Caninos (DEA: Dog Erythrocyte Antigen). Hasta la fecha, existen sueros comercialmente disponibles para la tipificación de siete grupos sanguíneos (DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5, 7 y Dal). Un perro puede ser positivo o negativo para cada uno de estos grupos sanguíneos, excepto para el grupo DEA 1, que contiene varios subgrupos (DEA 1.1, DEA 1.2 o nulo) (Hale 1995, Hohenhaus 2004, Blais y col. 2007). La importancia clínica de cada grupo sanguíneo viene determinada por tres factores: la prevalencia de presentación, la presencia de anticuerpos frente a dicho grupo sanguíneo y el tipo de reacción transfusional que produce. De todos los grupos sanguíneos, el grupo DEA 1.1 es el más importante desde el punto de vista clínico. Aunque los perros no tienen anticuerpos naturales contra este grupo, se trata de un grupo muy antigénico y se desarrollarán anticuerpos frente a este grupo sanguíneo entre 4 y 14 días después de que un receptor DEA 1.1 negativo sea expuesto a eritrocitos DEA 1.1 positivos (Haldane y col. 2004). Si posteriormente el mismo receptor recibiese una segunda transfusión de eritrocitos DEA 1.1 positivos se producirá una hemólisis intravascular



aguda (clasificada como reacción de hipersensibilidad tipo 2), que cursará con hemoglobinemia, hemoglobinuria, isquemia renal, insuficiencia renal aguda, coagulación intravascular diseminada, fallo multiorgánico e incluso muerte del receptor (Giger y col. 1995). Debido a la falta de anticuerpos naturales contra este antígeno, las pruebas de compatibilidad sanguínea (crossmatching) no mostrarán aglutinación hasta varios días después del primer contacto de un receptor DEA 1.1 negativo con eritrocitos DEA 1.1 positivos. Es por ello que todos los autores coinciden en destacar la importancia de la tipificación del DEA 1.1 en el donante y en el receptor antes de una transfusión para disminuir los posibles efectos adversos y optimizar la supervivencia de los eritrocitos transfundidos (Hale 1995, Giger y col. 1995, Tocci y Ewing 2009).

El DEA 1.1 se expresa en aproximadamente el 40-60% de la población canina general, sin embargo, numerosos estudios previos han demostrado que existen marcadas diferencias en su prevalencia en función de la raza y ubicación geográfica. Según dichos estudios la menor prevalencia de DEA 1.1 se presentan en Collies (0%), Boxers (13%), Greyhounds (13,1%), perros indígenas de Nigeria (32%), Beagles (39%) y SetterIngleses (43% ), mientras que la frecuencia más alta de expresión de DEA 1.1 ha sido descrita en razas como el Dalmata (97%), Pastor Croata (90%), Shiba Inu (79%), Rottweiler (78%), Cocker Spaniel (71%), Kar (71%), Kangal (67,9%), Istrian Hound (66%), Pastor Aleman (64%), Akbash (60%) y LabradorRetriever (55%). Sin embargo, los datos de estos estudios deben ser interpretados con cautela ya que en muchos de ellos el número de individuos por raza fue demasiado bajo para sacar conclusiones definitivas (Novais y col. 1999, van de Merwe y col. 2002, Nottidge y col. 2006, Gracner y col. 2007, Hale y col. 2008, Zubcic y col. 2008, Iazbik y col. 2010, Ferreira y col. 2011, Ergul Ekiz y col. 2011).

La definición más restrictiva de “donante universal canino” sería aquel perro negativo para el DEA 1.1, 1.2, DEA 3, DEA 5 y DEA 7, y positivo o negativo para el DEA 4 (Hale 1995). Sin embargo, la importancia clínica de otros grupos sanguíneos diferentes al DEA 1.1 es controvertida y, debido a la escasez de reactivos para la tipificación, la determinación del resto de grupos sanguíneos se limita a estudios experimentales en

laboratorios especializados (Hale 1995, Hohenhaus 2004, Giger y col. 2005). Muchos autores consideran que la tipificación únicamente del DEA 1.1, junto con las pruebas de crossmatching, sería una aproximación más realista, práctica y eficaz al estudio de compatibilidad sanguínea (Andrews 2006, Tocci y Ewing 2009, Kessler y col. 2010). Estos autores basan su argumentación en que, hasta la fecha, sólo se han descrito reacciones transfusionales importantes asociadas a la transfusión de eritrocitos con antígenos de alta frecuencia (DEA 1.1, DEA 4 y Dal) en receptores negativos que habían sido previamente sensibilizados por una primera transfusión positiva (Giger y col. 1995, Callan y col. 1995, Melzer y col. 2003, Hohenhaus 2004, Blais y col. 2007). Debido a que el 98% de los perros son positivos para el DEA 4 (Hale 1995), sería poco probable encontrar un perro DEA 4 negativo que requiriera varias transfusiones a lo largo de su vida y además, sería difícil encontrar un donante negativo para este receptor. En el único artículo descrito de un caso de reacción transfusional hemolítica aguda debido a la falta de tipificación de DEA 4, el riesgo potencial de sensibilización frente al grupo DEA 4 se calculó en 1,5% y la probabilidad de que se produzca una reacción transfusional hemolítica aguda asociada al DEA 4 en un perro que requiera múltiples transfusiones fue de 0,15% (Melzer y col. 2003). Es por ello que estos autores consideran poco importante, desde el punto de vista clínico, tipificar dicho grupo sanguíneo antes de una transfusión. En el mismo sentido, el antígeno Dal parece ser común en la población canina general y sólo está ausente en algunos Dálmatas, por lo que probablemente solo sea necesaria su tipificación en receptores de raza Dálmata que requieren varias transfusiones (Blais y col. 2007). Un bajo porcentaje de perros negativos para los grupos DEA 3, 5 y 7 pueden presentar aloanticuerpos naturales débiles preexistentes frente a estos grupos sanguíneos. Sin embargo, estos grupos sanguíneos son menos comunes y una reacción transfusional adversa frente a ellos únicamente causaría una disminución de la supervivencia de los eritrocitos transfundidos a medio plazo, por lo que probablemente su tipificación previa tampoco es clínicamente imprescindible (Hale y Werfelmann 2006, Blais y col. 2009). Por el contrario, la tipificación de todos los grupos sanguíneos si podría ser interesante en aquellos receptores en los que se prevea la necesidad de recibir múltiples

transfusiones sanguíneas, cuando aparezca incompatibilidad con múltiples donantes en las pruebas de Crossmatching, o cuando se sospeche de una reacción transfusional hemolítica en perros correctamente tipificados del DEA 1.1.

#### **2.5.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN EL ANTÍGENO ERITROCITARIO CANINO (DEA) 1.1 DE LOS LEBRELES**

A pesar de que los lebreles son frecuentemente usados como donantes de sangre, la prevalencia del antígeno eritrocitario canino DEA 1.1 únicamente ha sido estudiada en el Greyhound. Iazbik y col. (2010) determinaron que sólo el 13,3% de los Greyhounds expresan el grupo sanguíneo DEA 1.1, el 2,9% expresan el grupo sanguíneo DEA 1.2 y el 63,4% podrían ser considerados donantes universales (negativos para DEA 1.1, 1.2, 3, 5 y 7 y positivos o negativos para el DEA 4), mientras que en la población canina en general, un 60,6%, fueron DEA 1.1 positivos y tan sólo el 18,2% fueron considerados donantes universales. En este estudio no se encontraron diferencias significativas en los grupos sanguíneos DEA 1.2, 3, 4, 5 y 7 entre los Greyhounds y otras razas (Iazbik y col. 2010). La menor prevalencia de DEA 1.1 y la mayor proporción de donantes universales se suman al resto de ventajas que presenta el Greyhound para ser considerado la raza donante por excelencia (peso superior 25 kg, conformación anatómica delgada con venas prominentes, carácter tranquilo, mayor valor hematocrito y mayor capacidad de transporte de oxígeno) (Dodds 1994, Kaheler 1994, Huges 2003, Garon y col. 2010). Aunque los Greyhounds también presentan una menor concentración de factor X, fibrinógeno y factor de von Willebrand que otras razas, estas diferencias no se consideran suficientemente significativas como para excluir a dicha raza como donante de plasma fresco congelado (Walton y col. 2014).

## **2.6. IMPORTANCIA DE LA BIOQUÍMICA SÉRICA. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

La bioquímica sérica evalúa la función renal, enzimas hepáticas, enzimas musculares y el metabolismo lipídico mediante el estudio de parámetros como creatinina (Crea), urea, fósforo (P), alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), gamma-glutamil tranferasa (GGT), fosfatasa alcalina (ALKP), creatin quinasa (CK), colesterol (Chol) o glucosa (Gluc).

La creatinina sérica se produce por degradación espontánea no enzimática de la fosfocreatinina muscular. La tasa de formación de creatinina es constante y proporcional a la masa muscular, mientras que el aclaramiento de creatinina es dependiente de la filtración glomerular. Un aumento en la creatinina habitualmente está relacionado con una disminución de la filtración glomerular, sin embargo un aumento de la masa muscular podría producir un incremento en la producción de creatinina (Finco 1997, Feeman 2003). Varios estudios previos han propuesto que la raza tiene una importante influencia en los valores de Crea (Concordet y col. 2008, Sharkey y col. 2009, Lavoue y col. 2013). Existen diferencias significativas en los valores de Crea entre el Husky Siberiano, Alaskan Malamute, Golden Retriever y Setter Inglés (Sharkey y col. 2009). Además, el Dogo de Burdeos presenta un límite inferior del intervalo de referencia superior al de la población general (Lavoue y col. 2013). Sin embargo, aunque parece lógico que la modificación de los intervalos de referencia en función de la raza podría mejorar el proceso de detección de la enfermedad renal, los autores de estos estudios concluyeron que la toma de decisiones clínicas basados en nuevos intervalos de referencia específicos de raza probablemente no mejorarían el proceso diagnóstico (Concordet y col. 2008, Sharkey y col. 2009, Lavoue y col. 2013).

La urea se forma por conversión hepática del amonio originado por el catabolismo proteico mediante el ciclo de la urea y se elimina por filtración glomerular. Un aumento de la urea puede estar asociado a un aumento de dietas ricas en proteínas, hemorragia gastrointestinal o por una disminución del aclaramiento renal. Una disminución de la concentración de urea en plasma puede estar asociado a dietas muy restrictivas en proteínas, falta de conversión hepática de amonio en urea o un aumento de la excreción renal en caso de poliuria (Stockham y Scott 2008). Aunque se

ha propuesto que la raza podría tener influencia en la concentración de urea, parece poco probable que establecer intervalos de referencia específicos para cada una de ellas pudiese modificar el manejo clínico de los pacientes (Concordet y col. 2008, Sharkey y col. 2009, Nielsen y col. 2010).

La alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) son enzimas presente sen los hepatocitos cuya actividad aumenta de forma proporcional al número de células dañadas después de un daño hepatocelular agudo, sin embargo no proporcionan información sobre la funcionalidad hepática. Su actividad puede aumentar en daño hepático secundario a patologías metabólicas, neoplasia, hepatitis, cirrosis, pancreatitis, hipoxia, tóxicos, administración de fármacos o en anomalías vasculares (Stockham and Scott 2008). La ALT y AST también están presentes en menor concentración en el músculo esquelético y cardiaco, por lo que puede haber un aumento leve de su actividad en casos de daño muscular severo. La AST también está presente en los eritrocitos, por lo que la hemolisis in vitro puede producir un aumento artefactual (Stockham and Scott 2008). La variabilidad de la actividad de ALT y AST asociada a la raza ha sido bien documentada. Un estudio reciente demostró mayores concentraciones de ALT y AST en el Dogo de Burdeos en comparación con otras razas, siendo probablemente una variación fisiológica asociada a su mayor masa muscular (Lavoue y col. 2013). Además, Sharkey y col. (2009) también demostraron importantes diferencias en la actividad de ALT y AST entre el Alaskan Malamute, Setter Inglés, Husky Siberiano y Golden Retriever. Estas variaciones fueron especialmente acusadas en el Setter Inglés, cuyo límite superior del intervalo de referencias para la ALT y AST se encontró entre 3 y 4 veces por encima delos establecidos para la población canina general o para las otras tres razas estudiadas (Sharkey y col. 2009).

La fosfatasa alcalina (ALP) es una enzima de inducción que se encuentra unida a diferentes membranas celulares, diferenciándose varias isoformas de ALP (hepática, ósea e inducida por corticosteroides). La ALP hepática se asocia al epitelio biliar y a la membrana de los canalículos de los hepatocitos y su actividad sérica aumenta tras un daño a este nivel. El aumento de la ALP puede estar asociado a colestasis, fármacos, aumento de la actividad osteoblástica, patologías endocrinas y otras condiciones como

ingesta de calostro o neoplasias mamarias. La variabilidad de la ALP asociada a la raza también ha sido descrita, de forma que razas como el Scottish Terrier presentan niveles de ALP por encima de intervalos de referencia para otras razas (Nestor y col. 2006). Sin embargo, no se ha podido demostrar que este aumento sea fisiológico y podría estar relacionado con una mayor incidencia de hepatopatías o enfermedad adrenocortical en esta raza (Nestor y col. 2006, Zimmerman y col. 2007). También en el Boyero de Berna se han tenido que establecer nuevos intervalos de referencia específicos de raza para la ALP debido a que presenta una mayor concentración de dicha enzima respecto a la población canina general (Nielsen y col. 2009).

La gamma glutamil transpeptidasa (GGT) también se considera una enzima de inducción unida a las membranas celulares que puede aumentar en situaciones de enfermedad hepática asociada a colestasis, hiperplasia biliar, administración de fármacos (corticosteroides y anticonvulsivantes), hiperadrenocorticismismo o diabetes mellitus. La GGT no aporta información sobre la función hepática y se considera más sensible pero menos específica que la ALP para la detección de enfermedad hepática (Stockham and Scott 2008). La actividad de la GGT también puede sufrir variaciones en función de la raza. Sharkey y col. (2009) demostraron diferencias significativas entre Alaskan Malamute, Setter Inglés, Husky Siberiano y Golden Retriever para la actividad de GGT. Estas diferencias fueron especialmente relevantes en el Setter Inglés, cuyo límite superior de referencia fue dos veces por encima de él de la población canina general o el Husky Siberiano (Sharkey y col 2009). Además, en el Boyero de Berna también se han descrito aumentos significativos de GGT respecto a otras razas (Nielsen y col. 2009).

La creatinina quinasa (CK) es una encima presente en todos los tipos de músculo y es un marcador sensible de daño muscular. Debido a su corta semivida, la actividad sérica de la CK vuelve a niveles normales después de 1 o 2 días tras el cese del daño muscular. Puede verse incrementada en situaciones como traumatismos, miopatías, convulsiones, hipotiroidismo canino, ejercicio extenuante u otros procesos como decúbito prolongado, inyecciones intramusculares o cirugías (Stockham and Scott 2008). La hemolisis in vitro también puede hacer que aumente de forma

artefactual la actividad de la CK. Hasta la fecha, únicamente se ha demostrado una mayor concentración de CK en el Greyhound (Porter & Canaday 1971, Steiss y col. 2000, Dunlop y col. 2011).

El colesterol es fundamentalmente sintetizado en los hepatocitos, aunque existen otras fuentes importantes a nivel de la mucosa intestinal, gónadas y glándula adrenal. Un incremento del colesterol sérico tras 12 horas de ayuno podría estar relacionado con síndrome nefrótico o nefropatía perdedora de proteínas, hipotiroidismo, diabetes mellitus, hiperadrenocorticismos, colestasis, pancreatitis o hiperlipidemia idiopática (Stockham and Scott 2008). Los estados de hipocolesterolemia son bastante menos frecuentes, y suelen estar causados por shunts portosistémicos, enteropatías perdedoras de proteínas o hipoadrenocorticismos. Se ha demostrado que existen importantes variaciones en la concentración de colesterol en función de la raza. Así, el Schnauzer miniatura, Boyero de Berna, Dogo de Burdeos, Pastor de las Islas Shetland y Pastor de Brie pueden presentar una mayor concentración de colesterol que otras razas (Rogers y col. 1975, Watson y col. 1993, Sato y col. 2000, Nielsen y col. 2009, Lavoue y col. 2013). Aproximadamente un 10% de los Dogos de Burdeos presentan una mayor concentración de colesterol en plasma que la establecida para la población canina general sin significado patológico, por lo que en dicha raza se han establecido nuevos intervalos de referencia para el colesterol (Lavoue y col. 2013).

La concentración sanguínea de glucosa depende de la producción hepática, de la ingesta de alimentos y de la utilización de glucosa por los tejidos. Las diferentes hormonas que influyen en la gluconeogénesis y en la glucogenolisis, y por tanto en los niveles de glucosa, son la insulina, glucagón, hormona de crecimiento, catecolaminas y glucocorticoides. Un estado de hiperglucemia puede estar relacionado con ingesta de comida, estrés, diabetes mellitus, hiperadrenocorticismos, acromegalia, glucagonoma, hipertiroidismo, hipotiroidismo, o la administración de fármacos. Estados de hipoglucemia pueden estar asociados a ayuno en perros de raza toy, caquexia, malabsorción, hipoglucemia juvenil, hipoadrenocorticismos, ejercicio extenuante, sepsis, disfunción hepática, tumores secretores de insulina o a un aumento del consumo in

vitro por parte de eritrocitos, leucocitos y plaquetas (Stockham y Scott 2008). La bibliografía existente hasta la fecha demuestra que la influencia de la raza en los niveles de normalidad de glucosa probablemente sea escasa (Sharkey y col. 2009, Nielsen y col. 2009, Lavoue y col. 2013).

### **2.6.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN LA BIOQUÍMICA SÉRICA DE LOS LEBRELES**

Numerosos estudios han mostrado que los valores de bioquímica sérica de los diferentes lebreles difieren de los mostrados por otras razas (Porter y col. 1971, Lassen y col. 1986, Hilppo y col. 1986, Steiss y col. 2000, Shiel y col. 2007, Dunlop y col. 2011, Zaldívar-López y col. 2011a, Urhnikova y col. 2013, Sheerer y col. 2013).

Hilppo y col. (1986) propusieron que los lebreles presentan mayor Crea que otras razas. Posteriormente se observó que, dentro de los lebreles, la Crea es especialmente alta en el Greyhound y el Borzoi, mientras que los niveles de urea no difieren de los de otras razas (Steiss y col. 2000, Feeman y col. 2003, Drost y col. 2006, Dunlop y col. 2011, Uhrikova y col. 2013). En el estudio de Uhrikova y col. (2013), aproximadamente un 90% y un 25% de los Greyhounds y Borzois respectivamente, presentaron valores de Crea por encima de los intervalos de referencia de la población canina general. Para justificar la elevación de los niveles de Crea se han postulado diversas hipótesis: que sea debido a un efecto de la dieta, a una disminución de la tasa de filtración glomerular o a un incremento de la masa muscular. Sin embargo, los valores de Crea en Greyhounds se mantuvieron elevados después de estandarizar la dieta durante un periodo de 6 semanas, por lo que la primera hipótesis fue descartada (Feeman y col. 2003, Drost y col. 2006). Además, Drost y col. (2006) demostraron que el Greyhound presenta una tasa de filtración glomerular mayor que la de otras razas, por lo que dicha hipótesis también fue rechazada. Por tanto, parece que la elevada masa muscular, y la consiguiente elevada producción de fosfocreatinina, podría ser la causa que mejor justifica los elevados valores de Crea sérica (Drost y col. 2006, Zaldivar-López y col. 2011a). A diferencia del Greyhound y el Borzoi, parece que este



aumento de Crea sérica no está presente en otros lebreles como el Saluki, Levriero Italiano o Scottish Deerhound, probablemente relacionado con la menor masa muscular de estos lebreles (Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013).

Recientemente varios estudios han descrito mayores niveles de ALT en el Greyhound, Scottish Deerhound, Whippet y Levriero italiano, con respecto a otras razas (Dunlop y col. 2011, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). En el estudio de Uhrikova y col. (2013), la concentración de ALT fue mayor que el límite superior de referencia para otras razas en el 61% de los Levrieros italianos, en el 40,7% de los Greyhounds y en el 34,0% de los Whippets, pero siempre fue menor de dos veces el límite superior. Del mismo modo, en el estudio de Sheerer y col. (2013), un 22% de los Scottish Deerhounds presentaron una concentración de ALT por encima del límite superior de referencia inespecífico de razas. En Greyhounds se ha propuesto que la actividad de ALT podría ser resultado de la distrofia y necrosis muscular debido a su importante musculatura, sin necesidad de que exista implicación hepática (Zaldívar-López y col. 2011a). Sin embargo, los Scottish Deerhounds y los Levrieros Italianos no tienen una masa muscular tan importante como el Greyhound, por lo que el motivo del incremento de ALT en estas razas es desconocido (Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013). Una posibilidad que explicaría el aumento de ALT sería la presencia de enfermedad hepática subclínica, sin embargo todos los lebreles de los diferentes estudios se consideraron clínicamente sanos (Dunlop y col. 2011, Sheerer y col. 2013, Uhrikova y col. 2013).

También se ha descrito una mayor actividad de CK en el Greyhound en comparación con la población canina en general (Porter y Canaday 1971, Steiss y col. 2000, Dunlop y col. 2011), sin embargo esto no ha sido estudiado en otros lebreles. Hilppo y col. (1986) también mostraron una disminución en la concentración sérica de colesterol en los lebreles, sin embargo esta característica no ha sido posteriormente descrita en otros estudios. Por el contrario, en el Scottish Deerhound se ha descrito una posible hipercolesterolemia sin significado patológico (Sheerer y col. 2013). Por último, Sheerer y col. (2013) también mostraron que el Scottish Deerhound presenta una menor concentración de glucosa que otras razas, sin embargo se ha descrito que

puede existir una gran variabilidad en los valores de glucemia en función de los equipos de medición empleados (Zaldívar-López y col. 2011a).

## **2.7. IMPORTANCIA DE LA ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS SÉRICAS. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

La electroforesis de proteínas séricas es una herramienta clínica útil para el diagnóstico, monitorización y pronóstico de aquellas enfermedades que implican cambios en las concentraciones de albúmina,  $\alpha$ -globulinas,  $\beta$ -globulinas y  $\gamma$ -globulinas (Eckersall y col. 2008). La albúmina se produce en el hígado y es una proteína de fase aguda negativa. Una disminución en la concentración de albúmina sérica puede estar asociada a una disminución de la producción (insuficiencia hepática, estados inflamatorios o hiperglobulinemia marcada), a un aumento de las pérdidas (enteropatía o nefropatía perdedora de proteínas, o hemorragia), o a secuestro en el tercer espacio (efusiones en cavidades corporales o pérdida de la permeabilidad vascular). Por el contrario, un aumento en la albúmina sérica únicamente se ha asociado a deshidratación (Eckersall y col. 2008).

Las globulinas están constituidas por inmunoglobulinas producidas por los linfocitos y por proteínas de fase aguda producidas en el hígado, por lo que la hiperglobulinemia se puede asociar a un aumento de la síntesis de proteínas de fase aguda o de inmunoglobulinas en procesos inflamatorios o neoplásicos. La hipoglobulinemia puede presentarse en neonatos, en individuos inmunodeprimidos o por pérdida a nivel gastrointestinal (Eckersall y col. 2008).

Además, en la electroforesis, las globulinas séricas se pueden separar en diferentes bandas o fracciones:  $\alpha$ -globulinas,  $\beta$ -globulinas y  $\gamma$ -globulinas. Las  $\alpha$ -globulinas incluyen otras proteínas como globulinas de unión al tiroides,  $\alpha$ -fetoproteína,  $\alpha$ -1-antitripsina,  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida,  $\alpha$ -lipoproteína,  $\alpha$ -2-macroglobulina, ceruloplasmina, haptoglobina, antitrombina y eritropoyetina. Las  $\beta$ -globulinas incluyen proteínas como la transferrina, hemopexina, complemento, plasminógeno y una fracción de inmunoglobulinas IgA e IgM. Las  $\gamma$ -globulinas agrupan a las

inmunoglobulinas A, G, M E y D, las cuales están implicadas en procesos inmunes (Eckersall y col. 2008). El estudio de dichas fracciones permite una mejor interpretación del proceso patológico presente. Así, la inflamación aguda producirá un incremento principalmente de las proteínas de fase aguda, y por tanto de las  $\alpha$ -1 y  $\alpha$ -2 globulinas. La inflamación crónica (parasitosis, infección bacteriana, procesos alérgicos, tumores y enfermedades autoinmunes) aumenta fundamentalmente las  $\alpha$ -2 globulinas y en ocasiones las  $\beta$ -globulinas. Un incremento de las  $\gamma$ - globulinas puede estar asociado a infección o neoplasia, y una bajada puede estar asociada a inmunodeficiencias (Eckersall y col. 2008).

Lavoue y col. (2013) demostraron que aproximadamente un 50% de los Dogos de Burdeos presentan una concentración de proteínas totales por encima de los intervalos de referencia para otras razas. También se han descrito diferencias significativas en la concentración de proteínas totales, albúmina y globulinas entre Alaskan Malamute, Husky Siberiano, Golden Retriever y Setter Inglés, con menores concentraciones de proteínas totales y albumina en el Setter Inglés, y con mayores concentraciones de globulinas en el Alaskan Malamute (Sharkey y col. 2009). Aunque son varios los estudios que demuestran diferencias significativas en la concentración de proteínas totales, albúmina y globulinas asociadas a la raza (Sharkey y col. 2009, Lavoue y col. 2013), la variación de las diferentes fracciones de proteínas mediante electroforesis de proteínas séricas únicamente ha sido estudiada en Greyhounds (Fayos y col. 2005).

### **2.7.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN LA ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS SÉRICAS DE LOS LEBRELES**

Varios estudios han demostrado diferencias significativas en la concentración de proteínas totales, albumina y globulina en los diferentes lebreles. Al comparar ocho razas de lebreles, Uhrikova y col. (2013) mostraron que todas ellas presentaban concentraciones de proteínas totales y albúmina por encima de los intervalos de referencia del laboratorio. La concentración de proteínas totales estuvo por encima de

referencia en un 23% de los Whippets, 21% de los Borzois, 25% de los Salukis y 30% de los Azawakhs. De la misma forma, la concentración de albumina estuvo por encima de referencia en un 52% de los Whippets, 27% de los Borzois, 70% de los Salukis, 38% de los Sloughis y 30% de los Azawakhs (Uhríkova y col. 2013). También en el estudio de Hilppo y col. (1986) realizado en 111 lebreles, estos presentaron una albumina superior a la de otras razas. Además, un 29% de los Scottish Deerhound presentan una concentración de globulinas totales por debajo del límite de referencia inferior para otras razas (Sheerer y col. 2009). A pesar de las numerosas diferencias descritas en las proteínas séricas de los diferentes lebreles, hasta la fecha, la electroforesis de proteínas séricas únicamente ha sido estudiada en Greyhounds.

A diferencia de la mayoría de los lebreles, los Greyhounds presentan valores de proteínas totales y globulinas ligeramente inferiores a los de otras razas (Porter y Canaday 1971, Sullivan y col. 1994, Steiss y col. 2000, Fayos y col. 2005, Clemente y col. 2010, Dunlop y col. 2011). Se han propuesto diferentes hipótesis para justificar la menor concentración de proteínas totales y globulinas en el Greyhound como el clima, condiciones fisiológicas (gestación, lactación, niveles hormonales) y condiciones ambientales (estrés, alimentación, ejercicio físico) (Heneghan 1977). Sin embargo, los niveles proteicos se mantienen prácticamente sin variación en los diferentes estudios independientemente de estos factores (Fayos y col. 2005). Ilkiw y col. (1989) sugirieron que la hipoproteinemia e hipoglobulinemia podrían ser el resultado de la expansión del volumen plasmático asociada al entrenamiento crónico, sin embargo esto no explicaría por qué sólo algunas fracciones proteicas se ven afectadas. Además, estos valores se mantienen bajos independientemente de que los animales hayan sido o no sometidos a entrenamiento (Pape y col. 1986). Actualmente, la teoría más aceptada es que la hipoproteinemia en esta raza podría ser un mecanismo de adaptación para disminuir la viscosidad de la sangre, puesto que tienen un mayor valor hematocrito y viscosidad de la sangre que otras razas (Bodey y Rampling 1998, Ramaiah y col. 2002, Fayos y col. 2005, Zaldívar-López y col. 2011a).

Fayos y col. (2005) estudiaron la electroforesis de proteínas séricas en el Greyhound y encontraron que los valores más bajos de proteínas totales y globulinas

totales eran debidos a concentraciones significativamente más bajas de  $\alpha$ - y  $\beta$ -globulinas, mientras que no se observaron diferencias significativas en los valores de albúmina y  $\gamma$ -globulinas. La menor concentración de proteínas de fase aguda, principalmente la haptoglobina y glicoproteína ácida, descrita en el Greyhound (Couto y col. 2009) podría justificar la menor concentración  $\alpha$ -globulinas, ya que ambas migran a la fracción  $\alpha$ - (Eckersall y col. 2008). Por otro lado, la baja concentración de IgA e IgM descrita en el Greyhound (Clemente y col. 2010) podría contribuir a la menor concentración de  $\beta$ -globulinas, ya que ambas inmunoglobulinas migran a la región  $\beta$ - en la electroforesis de proteínas séricas (Clemente y col. 2010, Zaldívar-Lopez y col. 2011a). Además, un estudio reciente sugiere que el Greyhound podría tener una menor concentración de transferrina que otras razas (Caro y col. 2013). Esta menor concentración de transferrina podría estar relacionada con la mayor predisposición del Greyhound a sufrir osteosarcomas y podría contribuir, al menos en parte, a la menor concentración de  $\beta$ -globulinas en dicha raza (Eckersall y col. 2008, Caro y col. 2013).

## **2.8. IMPORTANCIA DE LAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA. VARIABILIDAD ASOCIADA A LA RAZA**

La respuesta de fase aguda es la reacción que se produce en un animal como respuesta a infección, daño tisular, neoplasia, desordenes inmunológicos o traumatismos, y su objetivo es restaurar la homeostasis y eliminar la causa primaria (Ceron y col. 2005). Durante el desarrollo de la respuesta de fase aguda se liberan interleucina-1, interleucina-6 y factor de necrosis tumoral, que desencadenan un incremento de la producción de proteínas de fase aguda a nivel del hígado y otros tejidos. Estas proteínas se pueden clasificar en dos grandes grupos: proteínas de fase aguda negativas (albúmina y la transferrina), cuyos niveles disminuyen cuando se produce la respuesta de fase aguda, y proteínas de fase aguda positivas (haptoglobina, proteína C reactiva, proteína sérica amiloide, ceruloplasmina,  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida y el fibrinógeno), cuyos niveles aumentan cuando se produce la respuesta de fase aguda (Heinrich y col. 1990). Las proteínas de fase aguda positivas a su vez se pueden clasificar en función de la magnitud del incremento ante un estímulo inflamatorio

en:proteínas de fase aguda mayores (proteína C reactiva y proteína sérica amiloide A), que aumentan rápidamente entre 10 y 100 veces su valor basal en estados inflamatorios y posteriormente disminuyen rápidamente su nivel, y proteínas de fase aguda moderadas (glicoproteína ácida  $\alpha$ -1, haptoglobina y ceruloplasmina), que aumentan de manera más gradual entre 2 a 10 veces su valor basal y luego descienden también de forma gradual (Cerón y col. 2005). Las principales funciones biológicas de estas proteínas de fase aguda son mediar en la defensa del hospedador frente a patógenos (proteína C reactiva, proteína sérica amiloide A y fibrinógeno), inhibir proteasas y proteger la integridad de los tejidos del hospedador ( $\alpha$ 1-antitripsina y  $\alpha$ 1-antiquimotripsina), y actuar como antioxidantes, protegiendo a los tejidos del hospedador frente a los metabolitos del oxígeno que son liberados por parte de las células fagocíticas durante la inflamación (ceruloplasmina, haptoglobina y hemopexina) (Cerón y col. 2005)

Hasta la fecha únicamente dos estudios han valorado la influencia de la raza en los valores de normalidad en las proteínas de fase aguda. Así, Wong y col. (2011) describieron que la concentración de proteína C reactiva en Schnauzer miniatura es significativamente superior a la de otras razas de perros. Se ha propuesto que dicho aumento de proteína C reactiva podría estar relacionado con su hiperlipidemia idiopática y el mayor riesgo de desarrollar pancreatitis y aterosclerosis, sin embargo, esta teoría aún no ha sido contrastada (Wong y col. 2011). Por otro lado, también parece que el Yorkshire Terriers y el Dachshunds tienen niveles más bajos de glicoproteína ácida  $\alpha$ -1 en comparación con razas como el Caniche, Cocker Spaniel, Labrador Retriever o Pastor Alemán (Thougaard y col. 1999).

### **2.8.1. PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN LAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE LOS LEBRELES**

Hasta la fecha, en los lebreles, las proteínas de fase aguda únicamente han sido descritas en el Greyhound. Couto y col. (2009) demostraron que el Greyhound presenta menores niveles de haptoglobina y glicoproteína ácida  $\alpha$ -1 que el resto de las

razas. Además, cabe destacar que la haptoglobina fue insignificante o indetectable prácticamente en todos los Greyhounds. Tanto la haptoglobina como la glicoproteína ácida, migran a la fracción  $\alpha$ -globulinas en la electroforesis de proteínas séricas (Eckersall y col. 2008), por lo que de esta manera se podría explicar los menores niveles de  $\alpha$ -globulinas que presenta el Greyhound con respecto al resto de las razas (Fayos y col. 2005, Couto y col. 2009). Por el contrario no se encontraron diferencias significativas en la proteína C reactiva, ceruloplasmina y proteína sérica amiloide A entre los Greyhounds y otras razas (Couto y col. 2009).

### **2.8.2. IMPORTANCIA DE LA HAPTOGLOBINA Y PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN LOS LEBRELES**

La haptoglobina es una proteína de fase aguda sintetizada principalmente en el hígado y cuyas concentraciones plasmáticas aumentan estimuladas por la interleucina 6 en condiciones inflamatorias (Conner y col. 1988, Solter y col. 1991). La principal función de la haptoglobina es unirse de forma irreversible a la hemoglobina libre resultante de la hemólisis y formar un complejo estable. A diferencia de la hemoglobina libre, el complejo haptoglobina-hemoglobina no es eliminado a través del glomérulo y es retirado de la circulación por el sistema retículoendotelial fagocítico, permitiendo el reciclaje del hierro, disminuyendo el efecto vasoconstrictor, hipertensivo y oxidativo de la hemoglobina, y evitando el daño glomerular por la hemoglobina libre (Takami 1993, Lim y col. 1998, Boretti y col. 2009). Además, la haptoglobina participa en la respuesta del hospedador frente a la infección y a la inflamación, presenta efecto bactericida en heridas infectadas limitando la disponibilidad de hierro para el crecimiento bacteriano, inhibe la quimiotaxis de los granulocitos y la fagocitosis y actúa como antioxidante (Cerón y col. 2005). Muchos estudios han utilizado los cambios en haptoglobina como marcador diagnóstico y pronóstico, pudiendo ser hasta 6 veces más sensible que los leucocitos en la detección de estados inflamatorios (Solter y col. 1991, Tosa y col 1993, Martínez-Subiela y col 2002). Sin embargo, al interpretar la haptoglobina para obtener información clínica, es importante conocer que pueden existir variaciones en su concentración en función de

la raza (Couto y col. 2009). Así, el Greyhound presenta de manera fisiológica valores de haptoglobina prácticamente indetectables (Couto y col. 2009), lo cual no debería ser confundido con otros procesos que cursan con un descenso de la concentración de la haptoglobina como podría ser una hemólisis intravascular (Cerón y col. 2005).

## **2.9. OTRAS PARTICULARIDADES ESPECÍFICAS DESCRITAS EN LOS LEBRELES**

**Coagulación:** En Greyhounds se ha descrito que algunos individuos tienen una mayor predisposición al sangrado que otras razas (Lara-García y col. 2008). Según estudios previos, esta tendencia al sangrado no se ha relacionado con un menor recuento plaquetario de lo fisiológicamente descrito para la raza, trombopatía, enfermedad de von Willebrand, alteración en los tiempos de coagulación, ni con hipofibrinogenemia. Además, tampoco se han encontrado diferencias significativas en plasminógeno, concentración de D-dímeros, ni en actividad del factor XIII (Couto y col. 2006, Lara-García y col. 2008, Vilar y col. 2008). Un estudio de tromboelastografía ha puesto de manifiesto que el Greyhound presenta una cinética del coágulo más lenta y menor fuerza del coágulo que otras razas, lo que explicaría la mayor tendencia al sangrado en esta raza (Vilar y col. 2008). Los resultados del estudio de Lara-García y col. (2008) sugieren que además podría existir un incremento de la fibrinólisis, ya que los animales con tendencia al sangrado presentaron una menor actividad de antiplasmina. Los autores propusieron que la alteración en la coagulación podría ser una adaptación fisiológica para evitar la coagulación de la sangre al aumentar la viscosidad durante el ejercicio intenso (Lara-García y col. 2008). Esta particularidad no ha sido descrita hasta la fecha en otros lebreles.

**Perfil tiroideo:** Los Greyhounds, Borzois, Scottish Deerhounds, Salukis, Whippets, Sloughis e Irish Wolfhounds presentan una disminución de la concentración de T4 total respecto a otras razas, sin embargo, esto no se ha asociado con signos clínicos de hipotiroidismo. Además, la concentración de T4 libre también está por debajo de referencia, aunque no de forma tan marcada como la T4 total (Nachreiner y Refsal 1992, Beale y col. 1992, Hill y col. 2001, Panciera y col. 2003, Gaughan y col.



2006, Geffen y col. 2006, Shiel et al. 2007b, Panakova et al. 2008, Shiel et al. 2010). Las concentraciones de T3 total descritas en el Greyhound presentan una gran variabilidad (Shield y col. 2007), mientras que los niveles de T3 libre también suelen estar por debajo de los niveles fisiológicos de referencia (Cowan y col. 1997, Hill y col. 2001). Los niveles de TSH, se encuentran dentro del rango fisiológico para otras razas (Gaughan y col. 2001, Hill y col. 2001). A pesar de la disminución de T4 total, T4 libre y T3 libre, los estudios de escintigrafía indican que la función tiroidea es similar a la de otras razas (Pinilla y col. 2009).

**Características cardiocirculatorias:** El Greyhound se caracteriza por tener soplos cardiacos sistólicos sobre la base izquierda y de baja intensidad (grado III o menos) al que no se le atribuye importancia clínica (Fabrizio y col. 2006). Se ha descrito una mayor concentración de troponina I en esta raza, probablemente como consecuencia de la mayor masa muscular cardiaca, aumento del grosor de la pared ventricular y de la pared septal izquierda (Snyder y col. 1995, LaVecchio y col. 2009). También se ha descrito que tanto el Greyhound como el Irish Wolfhound tienen una presión arterial significativamente más alta que otras razas (Cox y col. 1976, Bright y Dentino 2002).

## **CAPÍTULO II – HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

Debido a que los lebreles comparten un mismo ancestro común (Parker y col. 2004), algunos autores sugirieron que las particularidades clinicopatológicas específicas del Greyhound podrían ser extrapoladas a otros lebreles (Dunlop y col. 2011, Zaldívar-López y col. 2011a). Sin embargo, estudios recientes demuestran que cada una de las razas que constituyen el grupo de los lebreles pueden presentar sus propias características laboratoriales específicas de raza (Sheerer y col. 2013, Uhríkova y col. 2013). Hasta la fecha no han sido estudiadas las características clinicopatológicas del Galgo Español. Es por ello que los objetivos de este estudio fueron:

1. Evaluar los resultados del hemograma, análisis de gases venosos, equilibrio ácido-base y electrolitos en el Galgo Español, y compararlos con los resultados presentes en la población canina general.
2. Estudiar la prevalencia del antígeno eritrocitario canino DEA 1.1 en el Galgo Español, y compararla con los resultados presentes en la población canina general.
3. Evaluar los resultados de la bioquímica sérica en el Galgo Español y compararlos con los resultados presentes en la población canina general.
4. Evaluar los resultados de la electroforesis de proteínas séricas y compararlos con los resultados presentes en la población canina general.
5. Evaluar los resultados de los niveles de haptoglobina en el Galgo Español y compararlos con los resultados obtenidos en Greyhounds y en la población canina en general.
6. Valorar las repercusiones que las características clinicopatológicas específicas del Galgo Español, si las hubiera, podrían tener en su empleo como donante de sangre.



## **CAPÍTULO III – MATERIAL Y MÉTODO, RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**1.- Haematology, Blood Gases, and Acid-Base Balance in the Galgo Español (Spanish Greyhound)**

Mesa-Sánchez I., Zaldívar-López S., Couto C.G., Gamito-Gómez A.,  
Granados-Machuca M.M., Lopez-Villalba I., Galán-Rodríguez A.

Journal of Small Animal Practice.53(7); 398-403 (2012)

# Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound)

I. MESA-SANCHEZ, S. ZALDIVAR-LOPEZ\*,†, C. G. COUTO\*,‡, A. GAMITO-GOMEZ, M. M. GRANADOS-MACHUCA, I. LOPEZ-VILLALBA AND A. GALAN-RODRIGUEZ

Department of Animal Medicine and Surgery, University of Cordoba, Córdoba, Spain

\*Department of Veterinary Clinical Sciences, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

†The Research Institute at Nationwide Children's Hospital, Columbus, OH, USA

‡The Comprehensive Cancer Center, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

**OBJECTIVES:** Haematologic profiles, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance have been studied and reported in healthy greyhounds; however, there is only one study published on blood gas values in Galgos Españoles. Because of their purported common origins with greyhounds (same group and class), it was hypothesised that Galgos Españoles also have differences in haematologic values, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance compared to other non-sporting breeds.

**METHODS:** Venous blood samples from 30 Galgos Españoles and 20 dogs from different breeds were collected, and complete blood counts, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance were measured.

**RESULTS:** From the 24 parameters analysed, 5 had statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Galgos Españoles had higher haematocrit ( $P < 0.001$ ), haemoglobin concentration ( $P = 0.003$ ), erythrocyte count ( $P = 0.016$ ) and pH ( $P = 0.03$ ), and lower platelet count ( $P = 0.005$ ), than those in other-breed dogs.

**CLINICAL SIGNIFICANCE:** These results confirm that significant haematologic differences exist in Galgos Españoles when compared with other dogs, although these differences are not as striking as in greyhounds. Practitioners need to be aware of these breed-specific differences in order to make accurate diagnoses in Galgos Españoles.

*Journal of Small Animal Practice* (2012) **53**, 398–403

DOI: 10.1111/j.1748-5827.2012.01235.x

Accepted: 27 April 2012

## INTRODUCTION

The Galgo Español (Spanish greyhound) is one of the most popular breeds in Spain. Galgos Españoles are mainly used for hunting and live lure coursing, but their importance as pets has increased in recent years, especially after retirement from hunting. Because of its athletic nature and breed classification, the Galgo Español is considered physiologically different from other

breeds, and more similar to the greyhound. They are both in group 10 (sighthounds) and section 3 (shorthair sighthounds), according to the Fédération Cynologique Internationale (2011). Haematologic profiles, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance have previously been reported in healthy greyhounds (Porter and Canaday 1971, Ilkiw and others 1989, Steiss and others 2000, Shiel and others 2007, Campora and others 2011, Zaldivar-Lopez and others 2011b,c), and

several breed-specific peculiarities have been confirmed. As limited information on haematological, electrolyte and blood gas values are available for the Galgo Español (Zaldivar-Lopez and others 2011a), these greyhound-specific peculiarities have simply been extrapolated to the Galgos Españoles in daily clinical practice. Because of the popularity of this breed, especially in Europe, it is important for clinicians to recognise the clinicopathologic peculiarities for veterinary clinical practice.

Greyhounds have higher haematocrit (HCT), haemoglobin (Hb) concentration and red blood cell count (RBC) (Porter and Canaday 1971, Heneghan 1977, Shiel and others 2007, Campora and others 2011), lower total white blood cell count (WBC), neutrophil count and platelet (PLT) count, and atypical eosinophil morphology, when compared with dogs of other breeds (Neuhaus and others 1992, Iazbik and Couto 2005, Shiel and others 2007, Giori and others 2009). Previous studies have also reported differences in blood gas values and acid-base balance in greyhounds compared to other breeds, with a higher Hb affinity for oxygen (Sullivan and others 1994, Zaldivar-Lopez and others 2011c). Recent studies have shown that blood gas values in the Galgos Españoles are also likely outside the reference limits for dogs; they have higher bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) concentration,  $\text{pCO}_2$ , total carbon dioxide (tCO<sub>2</sub>), total Hb (tHb) content and oxygen content (O<sub>2</sub>Ct), and lower pH, chloride (Cl) concentration and P50 than mixed-breed dogs (Zaldivar-Lopez and others 2011a).

In Galgos Españoles assessment of CBC, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance are of special interest for health screening as part of the blood donor process, because of the increasing use of this breed for this purpose. Some greyhound peculiarities have been demonstrated in other sighthound breeds (Shiel and others 2010), and genetic studies using microsatellite markers have demonstrated that several sighthound breeds cluster together (Parker and others 2007). Therefore, it was hypothesised that the Galgos Españoles, similar to other sighthounds, would also have different haematologic values, electrolyte concentrations, blood gas and acid-base balance values when compared to other non-sighthound breeds. The objective of this study was to evaluate these potential differences between the Galgos Españoles and a group composed of dogs of different breeds.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals

The animals comprised a group of Galgos Españoles and a control group of dogs of other breeds (non-Galgo Español group). All Galgos Españoles were blood donors in an animal blood bank, and the non-Galgo Español dogs were healthy patients (presenting for wellness visits, spays and neuters, and other minor surgical procedures) of the Veterinary Teaching Hospital at the University of Córdoba (Spain). All blood samples were collected after signed informed owner consent and before any other procedures were carried out between February and May 2011. This study was conducted according to European legislation (86/609/EU).

All dogs included in the study had similar lifestyles (i.e., family pets), and were considered to be healthy on the basis of their

clinical histories (no illness had been reported in any dog during the preceding year) and physical examination at the time of sample collection. All dogs were negative for five vector-borne diseases (*Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* and *Anaplasma phagocytophilum*) tested using a commercial ELISA SNAP test (Leishmania Snap and Snap 4Dx, Idexx Laboratories, Barcelona, Spain).

### Blood collection procedures

Venous blood samples were obtained by jugular venipuncture using 2-mL plastic syringes and 23 G needles, and blood was placed immediately into 1-mL tubes with ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) for the CBC, and using 1 mL syringes with lithium heparin for electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base measurements. All samples were stored in an ice-water bath at 4°C, submitted to the Córdoba University Clinical Pathology Laboratory and analysed between 30 minutes and 2 hours after collection.

### Blood analyses

Complete blood counts were performed using an automated haematology impedance analyser (Sysmex F-820), and included determination of RBC, Hb, HCT, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular Hb (MCH), mean corpuscular Hb concentration (MCHC), WBC, lymphocyte count, granulocyte and monocyte count and PLT count.

Electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance were measured using the Rapidlab 860 (Siemens Healthcare Diagnostic SL) analyser. This device directly measures  $\text{pO}_2$ , tCO<sub>2</sub>, pH, sodium ( $\text{Na}^+$ ), potassium ( $\text{K}^+$ ), ionised calcium ( $\text{Ca}^{++}$ ) and  $\text{Cl}^-$ , and calculates actual and standard  $\text{HCO}_3^-$ , tCO<sub>2</sub>, base excess of blood [BE(B)] and of extracellular fluid [BE(ecf)], estimated oxygen saturation (SO<sub>2</sub>) and anion gap (AnGap), based on potentiometry and amperometry methods. All analyses were performed following the manufacturer's recommendations and quality controls for assay conditions and instrumentation; a daily maintenance self-test was always done before performing any assay.

### Statistical analysis

The dogs were divided into two groups, Galgos Español and non-Galgo Español. The data were analysed using the statistical software SPSS 15.0. Descriptive statistics and a normality test (Kolmogorov-Smirnov test) were performed for all parameters, and both groups were compared statistically using a *t*-test. Levene's test was used to assess the equality of variances. Results for males and females within each group were also compared. Statistical significance was accepted at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

The groups comprised 30 Galgos Españoles and 20 control dogs of other breeds (non-Galgo Español group). The non-Galgo Español group included a variety of large and small breeds (seven mongrels, four beagles, two Labrador retrievers, two bulldogs,



**Table 1. Results of haematology measured in 30 Galgos Españoles and 20 other-breed dogs**

Parameter	GALGO		Other breeds		P
	Mean	SD	Mean	SD	
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	7.63	0.94	7.01	0.71	0.01
Hb (g/L)	183.63	19.88	169.00	12.90	<0.01
HCT (L/L)	0.52	0.05	0.47	0.03	<0.01
MCV (fL)	68.50	5.56	67.49	5.19	0.52
MCH (pg)	24.15	1.59	24.22	2.18	0.89
MCHC (g/L)	353.2	18.0	358.9	16.6	0.27
WBC ( $\times 10^9/L$ )	10.39	4.61	10.38	3.92	0.99
Monocyte/granulocyte count ( $\times 10^9/L$ )	8.17	3.92	7.60	3.91	0.62
Lymphocyte count ( $\times 10^9/L$ )	2.19	1.05	2.71	1.36	0.14
PLT ( $\times 10^9/L$ )	200.79	62.23	267.15	92.84	0.01

RBC Erythrocyte count, Hb Haemoglobin concentration, HCT Hematocrit, MCV Mean corpuscular volume, MCH Mean corpuscular haemoglobin, MCHC Mean corpuscular haemoglobin concentration, WBC Total leukocyte count, PLT Platelet count

two fox terriers, one German shorthair pointer, one Podenco and one cocker spaniel). The Galgo Español group included 18 males (60%) and 12 females (40%), with a mean age of 4.7 years (range 1 to 12 years), and a mean weight of 26 kg (range 22 to 30 kg). The non-Galgo Español group included 11 males (55%) and 9 females (45%), with a mean age of 5.2 years (range 1 to 10 years), and a mean weight of 19 kg (range 12 to 27 kg). There were no significant differences between males and females within each group for any parameter. Because of the limited number of neutered and spayed dogs (three males and three females from Galgo Español group, and three males and two females from non-Galgo Español group), this subpopulation was not evaluated in this study.

All the data were normally distributed. Results for CBC are shown in Table 1. From the 10 parameters measured, 4 were statistically significantly different between the groups. Galgos Españoles had higher HCT ( $P < 0.001$ ), Hb concentration ( $P = 0.003$ ) and RBC ( $P = 0.016$ ), and lower PLT count ( $P = 0.005$ ) than those in the non-Galgo Español group. There were no statistical differences between the groups for the remaining parameters (MCV, MCH, MCHC, WBC, lymphocyte count, granulocyte and monocyte count).

Results of blood gas values, electrolyte concentrations and acid-base balance are shown in Table 2. From the 14 parameters measured, only the pH was significantly different ( $P = 0.03$ ) between the two groups. The Galgo Español group had higher pH ( $P = 0.03$ ); however, the remaining parameters (pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup>, actual and standard HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, tCO<sub>2</sub>, BE(B), BE(ecf), SO<sub>2</sub> and AnGap) were not statistically different between the two groups.

## DISCUSSION

As published data are limited, reference values for CBC, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base balance in Galgos Españoles have been traditionally extrapolated from greyhounds because of their similarities. In the present study, CBC, electrolyte concentrations, blood gas values and acid-base

**Table 2. Results of blood gases, acid-base balance and electrolytes measured in 30 Galgos Españoles and 20 other-breed dogs**

Parameter	GALGO		Other breeds		P
	Mean	SD	Mean	SD	
pH	7.34	0.03	7.32	0.04	0.03
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	48.03	6.56	49.97	7.31	0.33
pO <sub>2</sub> (mmHg)	30.79	7.96	32.50	10.16	0.51
HCO <sub>3</sub> -real (mmol/L)	25.49	3.48	25.10	3.35	0.69
HCO <sub>3</sub> -std (mmol/L)	22.78	2.50	22.05	2.56	0.32
CO <sub>2</sub> t (mmol/L)	26.97	3.65	26.50	3.48	0.65
BE (B) (mmol/L)	-0.58	2.85	-1.71	2.93	0.18
BE (ecf) (mmol/L)	-0.23	3.69	-1.10	3.54	0.41
SO <sub>2</sub> (%)	52.79	14.81	54.71	19.83	0.69
Ca (mmol/L)	1.11	0.11	1.07	0.09	0.18
K (mmol/L)	4.28	1.09	3.94	0.31	0.18
Na (mmol/L)	137.74	5.77	136.65	4.56	0.48
Cl (mmol/L)	106.81	4.31	106.00	4.91	0.54
AnGap (mmol/L)	10.05	5.84	9.58	5.24	0.77

HCO<sub>3</sub> Bicarbonate, CO<sub>2</sub>t Total carbon dioxide, BE(b) Actual base excess, BE(ecf) Base excess in extracellular fluid, SO<sub>2</sub> Oxygen saturation, Ca Ionised calcium, K Potassium, Na Sodium, Cl Chloride, AnGap Anion gap

balance were analysed in a Galgo Español group and in a non-Galgo Español group (that included a variety of different dog breeds) and were compared to assess any differences.

The Galgos Españoles had higher HCT, Hb concentration and RBC and lower PLT count than dogs of other breeds, suggesting a real physiological characteristic of this breed, being in agreement with previous reports of greyhounds. Studies of young healthy pretrained and adult greyhounds (retired from racing) have shown that this breed has a higher HCT, Hb concentration and RBC, and a tendency towards lower PLT count when compared with other breeds (Porter and Canaday 1971, Heneghan 1977, Shiel and others 2007, Campora and others 2011, Zaldivar-Lopez and others 2011b).

The CBC results in this study are in general agreement with previous studies in greyhounds, with two exceptions. First, Shiel and others (2007), Campora and others (2011) and Porter and Canaday (1971) showed a lower WBC, lymphocyte and neutrophil count in greyhounds when compared to other breeds. However, in the present study, the total WBC, lymphocyte, granulocyte and monocyte counts were not different in the Galgo Español group when compared with the non-Galgo Español group, suggesting that Galgos Españoles have similar WBC counts to dogs of other breeds. Secondly, macrocytosis has been reported in greyhounds (Porter and Canaday 1971); however, recent studies have shown that their MCVs fall within the reference interval for dogs (Shiel and others 2007, Zaldivar-Lopez and others 2011b). Macrocytosis was first attributed to a shorter erythrocyte lifespan and a higher proportion of immature cells in greyhounds (Novinger and others 1996), but a different study using the same technique has shown no difference in erythrocyte lifespan between greyhounds and non-greyhounds (Garon and others 2010), so further studies are needed to clarify this controversy. There were no differences in MCV between the Galgo Español group and the control population in the present study.

The lower PLT count found in the present study in Galgos Españoles has also been reported in greyhounds, which had PLT

counts below established reference intervals for non-greyhound breeds (Sullivan and others 1994, Steiss and others 2000, Shiel and others 2007, Campora and others 2011). The results of this study suggest that a tendency towards a lower PLT count may also be present in healthy Galgos Españoles, and diagnosis of thrombocytopenia should be interpreted with caution in this breed. McDonald and Sullivan (1993) and Sullivan and others (1994) suggested that the stem-cell competition model of haematopoiesis was a possible explanation for the low PLT count in greyhounds (the left shift of the oxygen-Hb dissociation curve in greyhounds could result in mild, chronic hypoxia, leading to increased production of erythropoietin and increased erythropoiesis at the expense of megakaryocytopoiesis). Studies using flow cytometry have discarded immune-mediated disease as the cause of this low number of PLT in greyhounds (Santoro and others 2007). Thrombocytopenia is a common acquired disorder in dogs that can occur as the result of abnormal PLT distribution, decreased PLT production or decreased PLT survival; knowing that Galgos Españoles have a lower PLT count physiologically can help avoid overdiagnosing thrombocytopenia in this breed.

A major limitation of this study is that blood smears were not evaluated, so the results obtained from the analyser were not correlated to those from manual counting methods. Although results obtained with impedance analysers have been shown to correlate well with the manual counting method (Pastor and others 1997), and a daily maintenance self-test was always done before performing any assays, PLT clumps can be recounted as leukocytes or erythrocytes (Pastor and others 1997). Furthermore, this analyser does not differentiate between granulocytes and monocytes, so the differential white cell count should be interpreted with caution.

Another possible limitation of the present study is the high variability in the ages of our dogs (1 to 12 years). However, adult haematology values are reached by approximately 9 to 10 months in young pretraining greyhounds (Shiel and others 2007), and all dogs of our study were more than 1 year of age. Despite the variability induced by the use of different instrumentation, sampling criteria or demographics, and based on the results in Galgos Españoles, it is proposed that these values constitute idiosyncratic physiological characteristics in sighthounds.

The Galgo Español group had a higher pH when compared with the non-Galgo Español group (Table 2). The pH is a clinically relevant value used to ascertain acid-base status, which can result from several ventilatory, metabolic, renal or gastrointestinal conditions. Although the average pH at the time of sampling was higher in Galgos Españoles than in non-Galgos Españoles, this is unlikely to be clinically significant since no significant differences were observed in pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BE, AnGap and strong ion difference [there were no significant differences in free water effect (serum Na<sup>+</sup> concentration) and serum Cl<sup>-</sup> concentration]. Total weak acids (Atot), primarily composed of albumin and phosphorus, were not measured in this study. However, in a study examining serum protein electrophoresis in retired racing greyhounds (Fayos and others 2005), there was no significant difference in albumin compared to non-greyhound dogs, and hypoalbuminaemia, which can produce alkalosis, is unlikely to

be clinically significant in Galgos Españoles (unpublished data). Hyperphosphataemia is an important cause of acidosis; however, because serum phosphorus concentration is normally low, hypophosphataemia does not cause clinically significant alkalosis (Hopper and Haskins 2008) and it is unlikely to be the cause of increased pH in Galgos Españoles. Other relevant contributors to the metabolic acid-base component are lactate and unmeasured acids (ketoacids, sulfuric acid, ethylene glycol, salicylic acid, propylene glycol, metaldehyde, D-lactate and ethanol); an increase in these components leads to a decrease in pH (Hopper and Haskins 2008); however, an absence of these components does not cause alkalosis. Hyperventilation caused by anxiety could potentially explain the acid-base status in Galgos Españoles in this study, which would result in a pH increase; however, this is unlikely because the pCO<sub>2</sub> was not significantly lower in Galgos Españoles than in other breeds. Neither causes of hyperventilation, such as hypotension, shock, sepsis, exercise, pulmonary parenchymal disease, severe anaemia or pain, nor other causes of increase in pH, such as loss of hydrogen ions by vomiting, drugs or hypokalaemia, were observed in Galgos Españoles of this study.

The results presented here are different from that of a previous study in Galgos Españoles, which reported higher HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, pCO<sub>2</sub>, tCO<sub>2</sub>, tHb, O<sub>2</sub>Ct, and lower pH, serum Cl<sup>-</sup> concentration and P<sub>50</sub>, than a mixed-breed group (Zaldivar-Lopez and others 2011a). This could be due to a variety of factors, such as variations in the sampling and storage of blood samples, variations in the analysers used [Vetstat, IDEXX Laboratories (Zaldivar-Lopez and others 2011a) or Rapidlab 860, Siemens Healthcare Diagnostic SL (present study)] or variations in the control group. In this previous study, the control group had only true mixed-breed dogs (Zaldivar-Lopez and others 2011a), while in the present study the control group had pure breed dogs and only seven mixed-breed dogs. Storage of blood samples in ice water to minimise in vitro metabolic changes was performed and samples were evaluated within 30 minutes and 2 hours of the sampling. In a study of the effects of ice-water storage on blood gas and acid-base measurements, Rezende and others (2007) showed that venous pO<sub>2</sub> and SO<sub>2</sub> were significantly increased from baseline after 4 hours of ice-water storage in 1-mL samples, and pH significantly decreased only after 6 hours of storage. This increase in venous pO<sub>2</sub> is attributable to the diffusion of oxygen from and through the plastic of the syringe into the blood, which occurred at a rate that exceeded metabolic consumption of oxygen by the nucleated cells (Rezende and others 2007). No significant changes in pCO<sub>2</sub>, Hb content, O<sub>2</sub>t, BE or HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> were detected for Rezende in ice-water-stored venous samples that were measured within 6 hours of sampling. All samples in the present study were measured between 30 minutes and 2 hours of sampling, following the same technique previously reported; therefore, it is improbable that the values in the present study were altered by storage. More studies are required to clarify true blood gas values and acid-base balance in Galgos Españoles and the origin of the differences with previous results (Zaldivar-Lopez and others 2011a).

Venous samples were used in this study, instead of arterial blood, based on the National Committee for Clinical Laboratory

Standard (NCCLS) Guidelines, as venous samples are more commonly obtained and practical to evaluate in the clinical setting, and venous blood can provide satisfactory pH and pCO<sub>2</sub> values. However, venous pO<sub>2</sub> values may not be clinically relevant in a routine clinical study without simultaneous study of arterial pO<sub>2</sub> (NCCLS Guidelines). Sample handling could have influenced venous SO<sub>2</sub>%, pCO<sub>2</sub> and pO<sub>2</sub> (Wimberley and others 1991); however, all the samples were handled by the same operator (I.M.S.), using the same technique and minimising errors due to room-air contamination by expelling all air from the syringe, capping the syringe, and rolling the syringe between the hands periodically (Ehrmeyer and others 1993). It has been shown that the use of EDTA, citrate, oxalate and fluoride anticoagulants may alter the results of pH, but all our measurements were performed on lithium heparin, which is an acceptable anticoagulant for pH, blood gas values, electrolyte concentrations and metabolite analyses (Ehrmeyer and others 1993).

Blood gas and acid-base balance values have been previously studied in greyhounds. Steiss and others (2000) showed that more than 50% of greyhounds had values outside the canine reference intervals established in their laboratory for Hb, tCO<sub>2</sub> and AnGap. The current authors recently reported that greyhounds had significantly higher pH, pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, oxyhemoglobin, tHb, O<sub>2</sub>t, oxygen capacity and oxygen affinity, and significantly lower deoxyhemoglobin when compared with non-greyhound dogs (Zaldivar-Lopez and others 2011c). It is proposed that the high-oxygen-affinity Hb (low P50) found in the greyhound makes greyhound Hb more likely to remain bound to oxygen for longer, therefore being released at a deeper tissue level, where oxygen tension is lower. Sullivan and others (1994) proposed that the lower oxygen release to the tissues could be the reason for the higher RBC, Hb and HCT in greyhounds. However, differences in blood gas values and acid-base balance in the Galgo Español group when compared to the non-Galgo Español group were not found in the present study, with the exception of pH. No significant differences were observed between males and females in this study.

No significant differences in electrolyte concentrations between the Galgo Español group and the non-Galgo Español group were found. To the authors' knowledge, only one study has published results of electrolyte concentrations in Galgos Españoles. Zaldivar-Lopez and others (2011a) reported a lower serum Cl<sup>-</sup> concentration in Galgos Españoles when compared to mixed-breed dogs; however, in the present study, there were no significant differences for this parameter. Chloride is the major extracellular anion in the body, playing an important role in maintaining electrical neutrality and normal osmolality, and participating in the regulation of acid-base balance; therefore, the true value of this parameter should be established in Galgos Españoles by further studies to avoid misdiagnosis.

Recently, Dunlop and others (2011) established greyhound-specific reference intervals, demonstrating that the Ca<sup>++</sup> reference interval is lower in greyhounds when compared to standard reference intervals (Dunlop and others 2011). Steiss and others (2000) reported that greyhounds had higher Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> or Cl<sup>-</sup> concentrations, compared with the reference intervals of

the Auburn University Clinical Pathology Laboratory. Sodium concentrations in greyhounds examined by Porter and Canaday (1971) also were higher than in the mongrel controls. However, no significant differences between the Galgo Español group and the non-Galgo Español group in those parameters were found in this study. Possible confounding factors of environmental and lifestyle in the animals studied could have influenced the results (Ilkiw and others 1989, Rose and Bloomberg 1989, Toll and others 1995, Hill and others 2011) although pet animals with similar physical activity were selected.

A limitation of this study is the small size of the Galgo Español group. A larger study may have identified other significant differences. In addition, it would have allowed the calculation of breed-specific reference intervals in Galgos Españoles, which would have been useful in clinical practice.

## CONCLUSION

These results confirm that significant haematologic differences exist in Galgos Españoles, when compared with a group containing dogs of different breeds, although these differences are not as striking as in greyhounds. It can be concluded that Galgos Españoles and greyhounds have similar CBC peculiarities and differences when compared to other dog breeds, but they do not share blood gas, electrolyte concentration and acid-base balance idiosyncrasies previously reported in greyhounds. The present results suggest that some reference intervals (i.e., CBC) should be modified for Galgos Españoles, and veterinary practitioners should be conscious of these differences. CBC, blood gas values, electrolyte concentrations and acid-base balance are commonly evaluated in daily veterinary clinical practice, and Galgos Españoles have many idiosyncrasies that can affect their medical care. Being aware of these will prevent misdiagnoses and will allow more appropriate treatment and diagnostic testing in this breed.

## Acknowledgements

The authors thank Clinical the Laboratory of the Teaching Veterinary Hospital (University of Cordoba) for their support in this study, providing the blood analysers and reagents needed for the measurement of the parameters. This work was supported by the Medicine and Surgery Department of University of Córdoba and the Vice-chancellor for Internalization of the University of Córdoba.

## Conflict of interest

None of the authors of this article has a financial or personal relationship with other people or organisations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

## References

- CAMPORA, C., FREEMAN, K. P., LEWIS, G., GIBSON, F. I., SACCHINI, F. & SANCHEZ-VÁZQUEZ M. J. (2011) Determination of haematological reference intervals in healthy adult greyhounds. *Journal of Small Animal Practice* **52**, 301-309
- DUNLOP, M., SANCHEZ-VÁZQUEZ, M. J., FREEMAN, K. P., GIBSON, G., SACCHINI, F. & LEWIS, F. (2011) Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. *Journal of Small Animal Practice* **52**, 4-10

- EHRMEYER, S., BURNETT, R. W., CHATBURN, R. L., ET AL. (1993) Blood gas pre-analytical considerations : specimen, collection, calibration, and controls. NCCLS Document C27-A. Approved Guidelines. Wayne, PA. USA
- FAYOS, M., COUTO, C. G., IAZBIK, M. C. & WELLMAN, M. (2005) Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* **34**, 397-400
- FÉDÉRATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (2011) <http://www.fci.be/>. Accessed 20 June, 2011
- GARON, C. L., COHN, L. A. & SCOTT, M. A. (2010) Erythrocyte survival time in Greyhounds as assessed by use of in vivo biotinylation. *American Journal of Veterinary Research* **71**, 1033-1038
- GIORI, L., GIRONI, S., SCARPA, P., GUALTIERI, M. & PALTRINIERI, S. (2009) Prevalence of grey eosinophils in racing hounds and comparison of manual and instrumental counts. Proceeding of European Society of Veterinary Clinical Pathology and European College of Veterinary Clinical Pathology. Thessaloniki, Greece, October 7-9. p 95
- HENEGHAN, T. (1977) Haematological and biochemical variables in the greyhound. *Veterinary Science Communication* **1**, 277-284
- HILL, R. C., LEWIS, D. D., SCOTT, K. C., OMORI, M., JACKSON, M., SUNDSTROM, D. A., JONES, G. L., SPEAKMAN, J. R., DOYLE, C. A. & BUTTERWICK, R. F. (2001) Effect of increased dietary protein and decreased dietary carbohydrate on performance and body composition in racing Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* **62**, 440-447
- HOPPER, K. & HASKINS, S. C. (2008) A case-based review of a simplified quantitative approach to acid-base analysis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **18**, 467-476
- IAZBIK, M. C. & COUTO, C. G. (2005) Morphologic characterization of specific granules in Greyhound eosinophils. *Veterinary Clinical Pathology* **34**, 140-143
- ILKIW, J. E., DAVIS, P. E. & CHURCH, D. B. (1989) Hematologic, biochemical, blood-gas and acid-base values in Greyhounds before and after exercise. *American Journal of Veterinary Research* **50**, 583-586
- MCDONALD, T. P. & SULLIVAN, P. S. (1993) Megakaryocytic and erythrocytic cell lines share a common precursor cell. *Experimental Hematology* **21**, 1316-1320
- NEUHAUS, D., FEDDE, M. R. & GAEHTGENS, P. (1992) Changes in haemorrhology in the racing Greyhound as related to oxygen delivery. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **65**, 278-285
- NOWINGER, M. S., SULLIVAN, P. S. & MCDONALD, T. P. (1996) Determination of the lifespan of erythrocytes from Greyhounds, using an in vitro biotinylation technique. *American Journal of Veterinary Research* **57**, 739-742
- PARKER, H. G., KUKKOVA, A. V., AKEY, D. T., GOLDSTEIN, O., KIRKNESS, E. F., BAYSAC, K. C., MOSHER, D. S., AGUIRRE, G. D., ACLAND, G. M. & OSTRANDER, E. A. (2007) Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Research* **17**, 1562-1571
- PASTOR, J., CUENCA, R., VELARDE, R., VIÑAS, L. & LAVIN, S. (1997) Evaluation of a hematology analyzer with canine and feline blood. *Veterinary Clinical Pathology* **26**, 138-147
- PORTER, J. A. & CANADAY, W. R. (1971) Hematologic values in mongrel and Greyhound dogs being screened for research use. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **169**, 1603-1606
- REZENDE, M. L., HASKINS, S. C. & HOPPER, K. (2007) The effects of ice-water storage on blood gas and acid-base measurements. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **17**, 67-71
- ROSE, R. J. & BLOOMBERG, M. S. (1989) Responses to sprint exercise in the Greyhound: effects on hematology, serum biochemistry and muscle metabolites. *Research in Veterinary Sciences* **47**, 212-218
- SANTORO, S. K., GARRETT, L. D. & WILKERSON, M. (2007) Platelet concentrations and platelet-associated IgG in Greyhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **21**, 107-112
- SHIEL, R. E., BRENNAN, S. F., O'ROURKE, L. G., MCCULLOUGH, M. & MOONEY, C. T. (2007) Hematological values in young pretraining healthy greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* **36**, 274-277
- SHIEL, R. E., SIST, M., NACHREINER, R. F., EHRLICH, C. P. & MOONEY, C. T. (2010) Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **236**, 302-208
- STEISS, J. E., BREWER, W. G., WELLES, E. & WRIGHT, J. C. (2000) Hematologic and biochemical reference values in retired Greyhounds. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian* **22**, 243-249
- SULLIVAN, P. S., EVANS, H. L. & MCDONALD, T. P. (1994) Platelet concentration and hemoglobin function in Greyhounds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **205**, 838-841
- TOLL, P. W., GAEHTGENS, P., NEUHAUS, D., PIESCHL R. L., FEDDE, M. R. (1995) Fluid, electrolyte, and packed cell volume shifts in racing Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* **56**, 227-232
- WIMBERLEY, P. D., BURNETT, R. W., COVINGTON, A. K., FOGH-ANDERSEN, N., MAAS, A. H., MÜLLER-PLATHE, O., ZIJLSTRA, W. G. & SIGGAARD-ANDERSEN, O. (1991) Guidelines for routine measurement of blood hemoglobin oxygen affinity. IFCC Scientific Division, Committee on pH, Blood Gases, and Electrolytes. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry* **3**, 81-86
- ZALDIVAR-LOPEZ, S., RUANO-BARNEDA, R. & COUTO, G. C. (2011a) Blood gas analysis in a Spanish sighthound breed (Galgo Español). *Veterinary Record* **168**, 486
- ZALDIVAR-LOPEZ, S., MARIN, L. M., IAZBIK, M. C., WESTENDORF-STINGLE, N., HENSLEY, S. & COUTO, C. G. (2011b) Clinical pathology in greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology* **40**, 414-425
- ZALDIVAR-LOPEZ, S., CHISNELL, H. K., COUTO, C. G., WESTENDORFSTINGLE, N., MARIN, L., IAZBIK, M. C., COOPER, E. S., WELLMAN, M. I. & MUIR, W. W. (2011c) Blood gas analysis and coximetry in retired racing greyhounds. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **21**, 24-28

**2.- Prevalence of dog erythrocyte antigens 1.1 in Galgos (Spanish Greyhounds)**

Mesa-Sánchez I., Ruiz de Gopegui-Fernández R., Granados-Machuca M.M., Galán-Rodríguez A.

Veterinary Record. 5; 174-177 (2014)



# Paper

## Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in galgos (Spanish greyhounds)

I. Mesa-Sanchez, R. Ruiz de Gopegui-Fernández, M. M. Granados-Machuca, A. Galan-Rodriguez

**Dog erythrocyte antigen (DEA) 1.1 is the most clinically important blood group in dogs, as negative recipients for this group may develop a life-threatening acute haemolytic transfusion reaction if they receive several DEA 1.1 positive blood transfusions. Due to their physical features, galgos are frequently used as blood donors in clinical practice, however, there are no published data regarding the prevalence of DEA 1.1 in this breed. Expression of DEA 1.1 was determined in 118 galgos and 88 dogs of other breeds being screened as potential blood donors, using an immunochromatographic cartridge typing kit (Quick Test DEA 1.1, Alvedia, Lyon, France). Of the total dogs, 53.4 per cent (110/206) were positive for DEA 1.1. The prevalence of DEA 1.1 positive blood among our population of galgos and other-breed dogs were 51.7 per cent (61/118) and 55.7 per cent (49/88), respectively. Potential risk of sensitisation in a recipient of other breed following non-typed blood transfusion using blood from galgos was 22.9 per cent. Due to the clinical significance of DEA 1.1 and the high prevalence of this blood group in galgos of Spain, we strongly recommend blood-typing for this group before administering any blood transfusion using galgos as donors, as with transfusions from other commonly used breeds.**

### Introduction

Transfusion medicine is a growing area in veterinary medicine. Nowadays, red blood cell (RBC) transfusion is a common clinical practice for treatment of anaemia, and it is not uncommon to have patients requiring several transfusions throughout their lives. Canine blood groups are determined by glycolipids and glycoproteins on the erythrocyte surface and they are designated as dog erythrocyte antigen (DEA) 1, 3, 4, 5 and 7, and a new group called Dal. A dog can be positive or negative for each blood type, except for the DEA 1, which contains multiple alleles determining two subgroups (DEA 1.1 and DEA 1.2) and a null type (Hale 1995, Hohenhaus 2004, Blais and others 2007). Of all the canine blood groups, DEA 1.1 is the most clinically important; although dogs do not have naturally occurring antibodies against this group, it is extremely antigenic, and antibodies will appear in a DEA 1.1-negative recipient dog exposed to positive RBCs within 4–14 days (Haldane and others 2004). If a second DEA 1.1-positive RBC transfusion is administered to the same DEA 1.1-negative patient, acute intravascular haemolysis (classified as type 2 hypersensitivity), haemoglobinemia, haemoglobinuria, renal ischaemia, acute renal failure, disseminated intravascular coagulation, and even death may occur (Giger and others 1995).

However, this reaction is rare in clinical practice. The clinical consequences of blood types other than DEA 1.1 are controversial, and determination of these blood groups is limited to specialised laboratories (Hale 1995, Hohenhaus 2004, Giger and others 2005). Although there is no consensus as regards universal canine donors (Hale 1995, Andrews 2006, Tocci and Ewing 2009, Kessler and others 2010), blood typing for the presence of DEA 1.1 should be performed in all donor and recipient dogs prior to transfusion to minimise the occurrence of adverse effects and to optimise survival of transfused RBCs (Giger and others 1995, Hale 1995, Tocci and Ewing 2009). Currently, several commercial kits for typing DEA 1.1 antigen have been developed, such as typing cards (DMS RapidVet-H, DMS Laboratories, Flemington, New Jersey, USA), cartridge kits (Quick Test DEA 1.1, Alvedia, Lyon, France), QuickVet/RapidVet DEA 1.1 Blood Typing Cartridge (Scandinavian Micro Biodevices ApS, Farum, Denmark), or gel column agglutination within microtubes (ID-Gel Test Canine DEA 1.1, Dia-Med-Vet) (Giger and others 2005, Kessler and others 2010, Kohn and others 2012, Seth and others 2012, Blois and others 2013). DEA 1.1 is expressed in approximately 40–60 per cent of the general canine population. However, marked differences in DEA 1.1 frequencies among breeds and geographic locations have been reported (Novais and others 1999, van der Merwe and others 2002, Nottidge and others 2006, Gracner and others 2007, Hale and others 2008, Zubcic and others 2008, Iazbik and others 2010, Ergul Ekiz and others 2011, Ferreira and others 2011).

The galgo (Spanish greyhound) is a popular breed in Spain. Galgos are mainly used in sports and hunting, but their importance as companion pets has increased in recent years. Due to their physical features: large breed, readily accessible jugular vein, and good temperament, allowing the blood collection without sedation, galgos are frequently used as blood donors in clinical practice. However, despite the clinical importance of the DEA 1.1 and the increased selection of galgos as blood donors, to the authors' knowledge, there is no published data of the prevalence of DEA 1.1 in this breed. Interestingly, a recent study

Veterinary Record (2014)

doi: 10.1136/vr.102087

I. Mesa-Sanchez,  
M. M. Granados-Machuca,  
A. Galan-Rodriguez,

Veterinary Faculty, Department of  
Animal Medicine and Surgery, University  
of Cordoba, Córdoba, Spain

I. Mesa-Sanchez,  
R. Ruiz de Gopegui-Fernández,  
Veterinary Faculty,  
Department of Animal Medicine

and Surgery, Universitat Autònoma  
de Barcelona, Barcelona,  
Spain

E-mail for correspondence:  
[imesa84@gmail.com](mailto:imesa84@gmail.com)

Provenance: not commissioned;  
externally peer reviewed

Accepted February 3, 2014

in greyhounds, which are closely related to the galgo (they are both sighthound in group 10 and section 3 according to the *Fédération Cynologique Internationale*) reported that only 13.1 per cent of them expressed DEA 1.1 and 52.2 per cent were considered universal donors (negative for DEA 1.1, 1.2, DEA 3, DEA 5, DEA 7, and positive for DEA 4), whereas 60.6 per cent and 37.5 per cent of all other breeds combined were DEA 1.1-positive and universal donors, respectively (Iazbik and others 2010). Genetic studies have demonstrated that sighthound breeds cluster together (Parker and others 2007), therefore, we hypothesised that galgos, similar to greyhounds, would also have lower prevalence of DEA 1.1 when compared with other breeds that are not sighthounds. Therefore, the aims of this study were (1) to identify the prevalence of DEA 1.1 expression in galgos in Spain, (2) to compare this prevalence of DEA 1.1 with a control group of dogs of other breeds commonly used as blood donors in Spain and (3) to estimate the risk of sensitisation in a population of recipients that are not typed or cross-matched, when galgos are used as blood donors.

## Material and methods

### Animals

Expression of DEA 1.1 was determined in a total of 206 client-owned dogs (118 galgos and 88 dogs of a wide variety of breeds) being screened as potential blood donors in the animal blood bank of the Veterinary Teaching Hospital at the University of Córdoba (Spain). The following breeds were represented in the control group: golden retriever (18), mixed breed (13), beagle (10), German shepherd dog (9), boxer (7), Alaskan Malamute (5), labrador retriever (4), Bernese mountain dog (3), doberman (3), bobtail (3), great Dane (2), and one each of dogo Argentino, German shorthaired pointer, American Staffordshire terrier, pit bull, bull mastiff, shar pei, Belgian shepherd, Spanish mastiff, Newfoundland, English setter and Weimaraner. All dogs included in the study were at least one year of age, weighed over 25 kg (or donated less than 20 ml/kg if they weighed less than 25 kg), were current on vaccinations, and had no prior history of blood-borne infections or received a blood transfusion. All dogs were considered to be healthy on the basis of their clinical histories, physical examination, complete blood count (CBC), and serum biochemistry profile at the time of sample collection. All dogs were negative for five vector-borne diseases (*Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* and *Anaplasma phagocytophilum*) tested using a commercial ELISA SNAP test (Leishmania Snap and Snap 4Dx, Idexx Laboratories, Barcelona, Spain). The animals were assessed to have a good temperament and to be cooperative, and no sedation was required for any donor. All dogs were presented for screening as potential blood donors between February 2010 and May 2013. Signed informed owner consent was obtained from the owners of the dogs. This study was conducted according to European legislation (86/609/EU).

### Blood typing and calculation of risk of sensitisation

Blood samples for blood-typing were obtained from the jugular or saphenous vein. For each animal, 1 ml of blood was collected into EDTA vacutainer tubes (K3E/EDTA 1 ml tubes, Aquisel SL, Abrera, Spain), and processed immediately. DEA 1.1 expression was determined using an immunochromatographic cartridge typing kit (Quick Test DEA 1.1, Alvedia, Lyon, France) according to the manufacturer's instructions.

Potential risk of sensitisation after a non-typed blood transfusion using blood from a galgo in a recipient of other breed was calculated by multiplying the frequency of DEA 1.1 negative blood in the control group and the frequency of DEA 1.1 positive blood in galgos (Novais and others 1999, Kessler and others 2010, Ferreira and others 2011).

The data were analysed using the statistical software SPSS V.15.0. The Pearson's  $\chi^2$  test was used for statistical comparison of DEA 1.1 frequencies among groups. Statistical significance was accepted at  $P < 0.05$ .

## Results

Two hundred and six dogs were screened as potential donors over the enrolment period. Overall, 53.4 per cent (110/206) were positive for DEA 1.1, and 46.6 per cent (96/206) were negative for DEA 1.1. The prevalence of DEA 1.1 positive blood among our population of

galgos and other-breed dogs were 51.7 per cent (61/118) and 55.7 per cent (49/88), respectively. The prevalence of DEA 1.1 negative blood among this population of galgos and other breeds was 48.3 per cent (57/118) and 44.3 per cent (39/88), respectively. There was no significant difference between the groups with respect to DEA 1.1. ( $P = 0.57$ ). Potential risk of sensitisation in a recipient of other breed after a non-typed blood transfusion using blood from a galgo was 22.9 per cent.

## Discussion

Although transfusion reactions are rare in clinical practice, the potential for life threatening acute haemolytic reactions in DEA 1.1 negative dogs previously sensitised by being given DEA 1.2 positive donor blood means it is prudent to use DEA 1.1 negative blood for donations to recipients of unknown blood type or which are DEA 1.1 negative (Giger and others 1995, Tocci and Ewing 2009). As discussed in the introduction, the prevalence of the DEA 1.1 blood group varies with breed and this study tested the prevalence in galgos. We found there was no significant difference between the prevalence of the DEA 1.1 blood group the control group composed of dogs of other breeds commonly used as blood donors in Spain (55.7 per cent) and galgos (51.7 per cent). There is a potential risk of 22.9 per cent of sensitisation following the first transfusion if we use galgos as blood donors and blood that is not typed or cross-matched. These probabilities were similar to that reported previously by Novais and others (1999) and Ferreira and others (2011) and to that which might be predicted giving blood from other dogs likely to be used as donors in Spain.

We had hypothesised that galgos might share the low DEA 1.1 prevalence recently reported in greyhounds (Iazbik and others 2010) since the breeds are closely related in the sighthound group (group 10 and section 3 according to the *Fédération Cynologique Internationale*), but that was not the case. Diverse genetic pools of ancestors for sighthounds and different levels of inbreeding among different geographic locations may explain these differences between galgos and greyhounds. That the DEA 1.1 prevalence is not similar in the two breeds is important because, due to the phenotypic resemblance, there is a risk that the use of non-typed galgos as donors might be perceived as relatively safe practice.

The relatively high proportion of galgos that are DEA 1.1 means blood typing is still prudent before any transfusion, but does not detract from the breed otherwise making ideal blood donors due to their large size, easily accessible jugular vein, and good-temperament. Moreover, previous studies have reported that galgos, similar to other sighthounds, have higher haematocrit, haemoglobin (Hb) concentration, RBC count, oxygen content, and high oxygen-affinity Hb (lower P50), and lower platelet count when compared with dogs of other breeds (Zaldivar-López and others 2011, Mesa-Sánchez and others 2012).

A limitation of this study was that only one blood typing method was used, however, there is no currently accepted gold standard for canine blood typing (Giger and others 2005) and previous studies have demonstrated that the cartridge kit (Quick Test DEA 1.1, Alvedia, Lyon, France) is accurate (Seth and others 2012, Blois and others 2013) and performs well so long as dogs have haematocrit  $>40$  and do not have immune mediated haemolytic anaemia (Seth and others 2012, Blois and others 2013). Another limitation of this study was that extensive blood typing for multiple DEAs was not performed, however, the blood type of the ideal canine blood donor is not uniformly agreed on among transfusion experts (Hale 1995, Andrews 2006, Tocci and Ewing 2009, Kessler and others 2010). The most restrictive definition of the universal donor would be a dog negative for DEA 1.1, 1.2, DEA 3, DEA 5, DEA 7, and positive for DEA 4 (Hale 1995), whereas some authors consider that the importance of antigens other than DEA 1.1 is unclear, and thus cross-matching and testing for DEA 1.1 is more realistic and practical (Andrews 2006, Tocci and Ewing 2009, Kessler and others 2010). Given that debate, which has been well reviewed (Hale 1995, Hohenhaus 2004, Tocci and Ewing 2009) this study focussed on DEA 1.1 status only since it is widely recognised as the most clinically relevant.

In conclusion, the frequency of DEA 1.1 in galgos is similar to that of other breeds commonly used as donors in Spain, and similar to that reported in the literature for the general canine population, but is considerably higher than the prevalence of DEA 1.1 reported

in greyhounds, despite of they are both shorthair sighthounds. Due to the clinical significance of DEA 1.1 and the high prevalence of this blood group in galgos of Spain, we strongly recommend blood-typing for this group, as with other donors, before their use as blood donors to limit the probability of sensitisation and subsequent life-threatening haemolytic reactions.

## References

- ANDREWS, G. A. (2006) Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat. In Schalm's Veterinary Hematology. 5th edn. Eds B. F. Feldman, J. G. Zinkl, N. C. Jain. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins. pp 767–737
- BLAIS, M. C., BERMAN, L., OAKLEY, D. A. & GIGER, U. (2007) Canine dal blood type: a red cell antigen lacking in some Dalmatians. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **21**, 281–286
- BLOIS, S. L., RICHARDSON, D. M. & ABRAMS-OGG, A. C. (2013) Comparison of a gel column blood typing method and a point-of-care cartridge for Dog Erythrocyte Antigen 1.1. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **23**, 340–343
- ERGÜL EKİZ, E., ARSLAN, M., ÖZCAN, M., GULTEKİN, G. I., GULAY, O. Y., KIRMIZIBAYRAK, T. & GIGER, U. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 in 4 breeds native to different areas in Turkey. *Veterinary Clinical Pathology* **40**, 518–523
- FERREIRA, R., GOPEGUI, R. R. & MATOS, A. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 expression in dogs from Portugal. *Veterinary Clinical Pathology* **40**, 198–201
- GIGER, U., GELENS, C. J., CALLAN, M. B. & OAKLEY, D. A. (1995) An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **206**, 1358–1362
- GIGER, U., STIEGER, K. & PALOS, H. (2005) Comparison of various canine blood-typing methods. *American Journal of Veterinary Research* **66**, 1386–1392
- GRACNER, D., BEDRICA, L., LABURA, C., MATIĆIĆ, D., GRACNER, G. & SAMARDŽIJA, M. (2007) Blood groups and haematology in Istrian pointers. *Veterinarski Arhiv* **77**, 95–102
- HALDANE, S., ROBERTS, J., MARKS, S. L. & RAFFE, M. R. (2004) Transfusion medicine. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* **26**, 502–513
- HALE, A. S. (1995) Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. The Veterinary Clinics of North America. *Small Animal Practice* **25**, 1323–1333
- HALE, A. S., WERFELMANN, J., LEMMONS, M., SMILER, B. & GERLACH, J. (2008) An evaluation of 9570 dogs by breed and dog erythrocyte antigen typing. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **22**, 740
- HOHENHAUS, A. E. (2004) Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. *Transfusion Medicine Reviews* **18**, 117–126
- IAZBIK, M. C., O'DONNELL, M., MARIN, L., ZALDIVAR, S., HUDSON, D. & COUTO, C. G. (2010) Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* **39**, 433–435
- KESSLER, R. J., REESE, J., CHANG, D., SETH, M., HALE, A. S. & GIGER, U. (2010) Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. *Veterinary Clinical Pathology* **39**, 306–316
- KOHN, B., CLASSE, G. & WEINGART, C. (2012) Clinical evaluation of the QuickVet/RapidVet canine dog erythrocyte antigen 1.1 blood-typing test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **24**, 539–545
- MESA-SANCHEZ, I., ZALDIVAR-LOPEZ, S., COUTO, C. G., GAMITO-GOMEZ, A., GRANADOS-MACHUCA, M. M., LOPEZ-VILLALBA, I. & GALAN-RODRIGUEZ, A. (2012) Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *Journal of Small Animal Practice* **53**, 398–403
- NOTTIDGE, H. O., OMOBOWALE, T. O., WASHIO, M., AJADI, R. A., TOIZUMI, S. H. & TAKAHASHI, K. (2006) The prevalence of the dog erythrocyte antigen 1 (DEA 1.1 and 1.2) in Nigerian indigenous dogs. *Folia Veterinaria* **50**, 66–68
- NOVAIS, A. A., SANTANA, A. E. & VICENTIN, L. A. (1999) Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* **36**, 23–27
- PARKER, H. G., KUKKOVA, A. V., AKEY, D. T., GOLDSTEIN, O., KIRKNESS, E. F., BAYSAC, K. C., MOSHER, D. S., AGUIRRE, G. D., ACLAND, G. M. & OSTRANDER, E. A. (2007) Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Research* **17**, 1562–1571
- SETH, M., JACKSON, K. V., WINZELBERG, S. & GIGER, U. (2012) Comparison of gel column, card, and cartridge techniques for dog erythrocyte antigen 1.1 blood typing. *American Journal of Veterinary Research* **73**, 213–219
- TOCCI, L. J. & EWING, P. J. (2009) Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **19**, 66–73
- VAN DER MERWE, L. L., JACOBSON, L. S. & PRETORIUS, G. J. (2002) The breed prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1.1 in the Onderstepoort area of South Africa and its significance in selection of canine blood donors. *Journal of the South African Veterinary Association* **73**, 53–56
- ZALDIVAR-LÓPEZ, S., RUANO-BARNEDA, R. & COUTO, G. C. (2011) Blood gas analysis in a Spanish sighthound breed (Galgo Español). *Veterinary Record* **168**, 486
- ZUBČIĆ, D., BEDRICA, L., GRACNER, D., HARAPIN, I., FURY, M. & JEREMIC, J. (2008) Blood groups, haematology and clinicochemical indicators in indigenous breeds of dog. I. Croatian sheepdog. *Veterinarski Arhiv* **78**, 141–147







### **3.- Serum biochemical profile in Galgos.**

Mesa-Sánchez I., Ruiz de Gopegui-Fernández R., Granados-Machuca  
M.M., Galán-Rodríguez A.

Submitted to Topics in Companion Animal Medicine (2015)

## Serum biochemical profile in Galgos

I. Mesa-Sánchez<sup>1</sup>, R. Ruiz de Gopegui-Fernández<sup>2</sup>, M. M. Granados-Machuca<sup>1</sup> and A. Galán-Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Medicine and Surgery, University of Córdoba, Córdoba, Spain. Campus Universitario de Rabanales. Ctra. Nacional IV-A, km 396, 14014 Córdoba, Spain. <sup>2</sup>Department of Animal Medicine and Surgery, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. Campus de la UAB, 08193, Bellaterra (Cerdanyola del Valles), Barcelona, Spain

Corresponding author:

Ignacio Mesa-Sánchez  
Department of Animal Medicine and Surgery,  
University of Córdoba,  
Córdoba, Spain.  
imesa84@gmail.com  
phone: 0034 957 218 387  
fax: 0034 957 211 093

### ABSTRACT

Some sighthound breeds have serum biochemical profiles that are outside reference intervals established for the general population of dogs. Serum biochemistry has not been studied in Galgos and this is often interpreted as if they were Greyhounds. However, recent studies suggest that Greyhound clinicopathological features should not be extrapolated to other sighthound breeds. Blood samples were taken from 55 healthy Galgos and 55 control dogs of other breeds, and biochemical profiles were compared to assess any differences. Galgos had higher creatine kinase ( $p < 0.01$ ); and lower cholesterol ( $p < 0.01$ ) and glucose ( $p < 0.01$ ) than those in other-breed dogs. No significant differences were found in creatinine, urea, phosphorous, total calcium, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, total protein, albumin, globulin and albumin to globulin ratio. In summary, Galgos have significant differences in serum biochemistry compared with other breeds; however, these breed-specific features are different to those previously described in Greyhounds and other sighthounds. Practitioners need to be aware of these breed-specific differences in order to make accurate diagnoses.

**Keywords:** Sighthound, Galgo, Biochemistry, Clinical Pathology.

**Abbreviations:** Alanine aminotransferase (ALT), albumin (Alb), Alb to Glob ratio (AG ratio), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), cholesterol (Chol), creatinine (Crea), creatine kinase (CK), gamma glutamyl transferase (GGT), globulins (Glob), glucose (Gluc), phosphorous (Phos), total calcium (tCa), total proteins (TP).

### INTRODUCTION:

The reference intervals describe the variation of the analytes that can be expected in healthy animals and provide a basis for interpreting laboratory results obtained in individual patients. Inappropriate reference intervals can, therefore, lead to misinterpretations of

laboratory results and misdiagnoses. In human medicine, there is evidence that genetic background and geographic origin may impact on reference intervals and, therefore, they are usually constructed for subpopulations [1, 2]. In dogs, breed barriers have led to strong genetic isolation [3], and reference intervals that differ from

those of the general canine population have been previously described in breeds such as Bernese Mountains [4], Alaskan Malamutes, English Setters, Golden Retrievers [5] or several sighthounds [6-8]. Although partitioning of reference intervals could be challenging and tedious, it is considered essential to perform exploratory studies to assess potential differences between canine breeds and, where such differences are present, to ascertain if their clinical relevance is sufficient to establish new reference intervals [5, 9, 10].

The Galgo is one of the most popular breeds in Spain, with approximately 500,000 dogs throughout the country [11]. This breed is member of the sighthound family, which includes Afghan Hound, Azawakh, Borzoi, Chart Polski, Galgo, Greyhound, Irish Wolfhound, Italian Greyhound, Magyar Agár, Saluki, Scottish Deerhound, Sloughi and Whippet [12]. Sighthounds have unique physiologic adaptations, likely due to selection for hunting and racing, which result in laboratory values that are outside reference intervals established for the general population of dogs [6-8, 13]. The Greyhound has been by far the most studied sighthound breed [6]. Several studies in Greyhounds have shown differences in PCV, haemoglobin concentration, red blood cell count [14-17], total white blood cell count, neutrophil count, platelet count, eosinophil morphology [6, 16, 18], serum concentrations of blood urea nitrogen (BUN), globulins (Glob), total calcium (tCa), creatinine (Crea) [19], total proteins (TP), albumin (Alb) [20, 21] and creatine kinase (CK) [14, 21, 22] compared with dogs of other breeds. Previously, it was hypothesized that these differences in Greyhounds might be extrapolated to other sighthound breeds [6]. However, recent studies [7, 8] suggest that the application of the Greyhound biochemical reference intervals to other sighthounds is not recommended because of the frequent differences. Recently, we showed that Galgos have similar hematologic values than those previously found in other sighthounds

[23]; however, they have different electrolyte concentrations, blood gas values, acid-base balance, haptoglobin concentration and prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1.1, compared with those previously described in Greyhounds [23-25]. To the authors' knowledge, biochemical profile has not been studied in Galgos. Therefore, the aims of this study were: (1) to compare serum biochemical variables between Galgos and the general population of dogs; and (2) to determine if biochemical profiles in Galgos are similar to those previously reported in Greyhounds or other sighthounds. Based on the historical, phenotypical and physiological similarities between Galgos and other sighthounds, the authors hypothesised that Galgos have breed-related differences in biochemical analytes compared with the general population of dogs; however, these differences are not necessarily those previously described in Greyhounds.

## **MATERIAL AND METHOD**

### **Animals**

Samples were taken from a total of 110 clinically healthy dogs (55 Galgos and 55 age- and gender-matched control dogs of other breeds) that were part of the Blood Donor Program at the Clinical Veterinary Hospital at the University of Cordoba (Spain). The control group was composed of the following breeds: mixed breed (9), Golden Retriever (7), Labrador Retriever (6), German Shepherd (5), Boxer (5), Weimaraner (3), Alaskan Malamute (3), Doberman (3), Belgian Shepherd (2), Siberian Husky (2), Bobtail (2), Presa Canario (2), and one each of Bernese Mountain, Dogo Argentino, Dalmatian, Bull Mastiff, Newfoundland and English setter. All dogs had similar lifestyles (i.e. family pets). For inclusion in the study, dogs were required to be between 1 and 9 years of age. Dogs were considered to be healthy on the basis of their clinical histories, physical examination, CBC, and no obvious abnormal findings on biochemical profile at the time of sample collection. Serology for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophylum*,

*Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis* (Canine SNAP 4Dx Test, IDEXX Laboratories), and *Leishmania infantum* (Canine SNAP Leishmania Test, IDEXX Laboratories) were negative in all dogs.

#### Blood collection procedures and analyses

Fasting blood samples were collected from the jugular vein and placed into tubes without anticoagulant. The serum was removed immediately by centrifugation (1500g for 10 minutes), and frozen at -20°C until analysis within 24 hours. The analytes measured were Urea, Crea, phosphorous (Phos), tCa, cholesterol (Chol), TP, Alb, glucose (Gluc), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyl transferase (GGT) and CK using the A15 Biosystem Atom (Biosystem S.A., Barcelona, España) analyser. Values for Glob concentration, and Alb to Glob (AG)

ratio were calculated from the TP and Alb concentration.

#### Statistical analysis

The results were evaluated statistically using the statistical software SPSS 15.0. Normality was assessed by the Kolmogorov-Smirnov test. Comparisons among Galgos and other breeds were performed by T-student test (parameters with normal distribution) or Mann-Whitney U test (parameters without normal distribution). The level of significance was set at  $P < 0.05$ .

#### RESULTS

The study included 55 Galgos and 55 dogs of other breeds. There were 29 female and 26 male Galgos, with a mean age of 5.25 years (range 2 to 9 years) and a mean weight of 26.13 kg (range 23 to 32 kg); and 32 female and 23 male mixed breed dogs, with a mean age of 5.82 years (range 1 to 9

Parameter	Galgos			Other breeds			P
	Mean	SD	Median	Mean	SD	Median	
Crea (mg/dL)	0.93	0.21	0.90	0.89	0.32	0.80	0.40
Urea (mg/dL)	30.85	9.19	31.00	27.24	13.87	24.00	0.11
Phos (mg/dL)	4.25	0.77	4.30	4.01	0.78	4.00	0.10
tCa (mg/dL)	9.91	0.62	9.90	9.93	0.75	9.90	0.92
ALT (U/L)	46.45	28.88	42.00	40.89	25.19	35.00	0.28
AST (U/L)	33.80	19.75	30.00	29.78	9.49	28.00	0.43
ALP (U/L)	65.53	48.68	50.00	67.84	41.18	66.00	0.28
GGT (U/L)	8.60	3.98	7.2	9.44	4.66	8.00	0.38
CK (U/L)	230.76	139.14	205.00	153.69	69.09	142.00	<0.01
Chol (mg/dL)	170.78	40.80	167.00	206.16	50.50	204.00	<0.01
TP(g/dL)	6.23	0.54	6.30	6.21	0.45	6.20	0.81
Alb (g/dL)	3.01	0.45	3.06	2.94	0.28	2.90	0.35
Glob (g/dL)	3.22	0.62	3.20	3.27	0.45	3.30	0.67
AG Ratio	0.99	0.32	0.97	0.92	0.18	0.90	0.18
Gluc (mg/dL)	88.64	18.19	94.00	103.33	14.20	103.00	<0.01

Table 1. Results of biochemical profiles measured in 55 Galgos and 55 other-breed dogs

years) and a mean weight of 32.39 kg (range 23 to 41 kg).

The serum biochemical data for Galgos and other breeds are summarized in Table 1. Urea, Crea, Phos, tCa, ALT, Chol, TP, Alb, Glob, (AG) ratio and Gluc had a Gaussian distribution. The other analytes were not

## **DISCUSSION**

The Galgo is member of the sighthound family, which have laboratory values that are outside reference intervals established for the general population of dogs [6-8, 13]. Genetic studies using microsatellite markers have demonstrated that sighthound breeds cluster together [3], and because of the apparent shared ancestry, it was previously hypothesized that differences in Greyhounds could be extrapolated to other sighthound breeds [6]. However, recent studies [7,8] suggest that Greyhound clinicopathological features are different to those of other sighthound breeds. In the present study, Galgos had higher CK, and lower Chol and Gluc than those in dogs of other breeds. These results are different to those previously described in Greyhounds; therefore, biochemical features in Greyhounds should not be extrapolated to Galgos. These idiosyncrasies in Galgos may be evolutionary as this breed really took form in the middle ages. As the reconquest of Spain advanced, previously abandoned lands began to regain lost Christian populations and the hare became very commonplace in the sowing lands, thus consolidating the traditional hare races with Galgos. The municipal charters of Salamanca (9th century), Cuenca, Zorita de los Cosnes, Molina de Aragón (12th century) and Usagre (10th century) bear witness to this in the archives of Slonza [12].

Creatine kinase is mostly present in the skeletal muscle, myocardium, brain and intestine, and an increase in plasma CK activity can be associated to masticatory myopathy, polymyositis, trauma, thromboembolic disease, infectious disease (neosporosis and toxoplasmosis), endocrine disease (hyperadrenocorticism and

normally distributed. Galgos had higher CK ( $p < 0.01$ ); and lower Chol ( $p < 0.01$ ) and Gluc ( $p < 0.01$ ) than those in the control group. No significant differences among Galgos and other breeds were found in Crea, Urea, Phos, tCa, ALT, AST, ALP, GGT, TP, Alb, Glob, and AG ratio (Table 1).

hypothyroidism), convulsions, neuropathies, tremors, toxins or selenium and vitamin E deficiencies. An increase in its activity can also be observed in sustained muscle activity due to generation of free radicals [26]. However, the disorders described above were not suspected in Galgos in this study, and they were not racing or hunting dogs; therefore, this increase in CK concentration may reflect a physiological variation in this breed. This is not surprising since CK activity is also slightly higher in Greyhounds compared with other breeds [14, 21, 22].

Galgos showed lower Chol concentration compared with the control group, and hypocholesterolemia could be associated with hepatic insufficiency, maldigestion, malabsorption or protein-losing enteropathy; however, these diseases were not observed in dogs of this study. A previous study also showed lower Chol concentration in some sighthound breeds (Afghan hound, saluki and whippet) [13], while on the other hand, an idiopathic hypercholesterolaemia has been described in Scottish Deerhounds [8], and no significant differences has been observed in Greyhounds compared with the general population of dogs [6].

Decreased Gluc concentration in Galgos could be associated with sepsis, renal failure, hypoadrenocorticism, hypopituitarism, insulinoma, hepatic failure, neoplasia or glycogen storage disease; however, all dogs in this study were considered healthy at the time of sample collection and in subsequent blood donations. Hypoglycaemia can also occur in adult hunting dogs due to sustained exercise and depletion of liver glycogen (hunting dog hypoglycaemia); however,

Galgos in this study were no hunting or racing dogs. Lower Gluc concentration could also reflect an artefact since Galgos have higher haematocrit than other breeds [23], and erythrocytosis may result in spurious hypoglycaemia due to accelerated in vitro metabolism of Gluc; however, it was considered unlikely since serum was removed immediately after sample collection. Lower Gluc concentration has also been described in Scottish Deerhounds [8] and it might be considered as a breed-specific variation in some sighthounds. This should be taken into consideration to avoid false diagnoses of the diseases above described.

Interestingly, there was no difference in Crea concentration between Galgos and other breeds. Previous studies have showed that several sighthound breeds (Whippets, Afghan Hound, Borzois, and especially Greyhounds) have higher Crea concentration than other breeds [6, 7, 13, 21]. Drost and others [27] ruled out a lower glomerular filtration rate as cause of higher Crea concentration in Greyhounds, and a larger muscle mass has been proposed to explain this breed-specific feature. Our results suggest that Crea concentration in Galgos is similar to that of the general population of dogs and, in contrast to Greyhounds and other sighthounds, a mild increase in Crea concentration in an apparently healthy Galgo should be investigated.

Previous studies have shown that other sighthounds (Greyhounds, Scottish Deerhounds, Whippets and Italian Greyhounds) have increased ALT activity compared with other breeds [6-8, 13, 21]. In Greyhounds, increased ALT activity has been associated to muscle dystrophy and necrosis due to their large muscle mass, but this seems unlikely for Italian Greyhounds and Scottish Deerhounds as they have smaller muscle mass [7,8]. Our results suggest that the ALT activity in Galgos is similar to that described in the general population of dogs, and lower than Greyhounds and other sighthounds. A mild increase in ALT in a Galgo could be

associated with liver disease and it should not be overlooked.

It was previously shown that sighthounds, and specially Greyhounds, have decreased concentrations of TP and total Glob [13-15, 20, 22]. In contrast, no differences were observed in Galgos in our study compared with other breeds. The reason why Greyhounds have lower serum TP and Glob concentrations seems to be related to lower concentrations of  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions [20]. Lower IgA and IgM concentrations may contribute to the low  $\beta$ -globulin concentrations in Greyhounds; and lower concentrations of haptoglobin and acid-soluble glycoprotein may explain their low  $\alpha$ -globulin concentrations, since both protein migrate in the  $\alpha$ -globulin fraction [6, 28]. In a recent study, we showed that Galgos have similar haptoglobin concentration than that in the general population of dogs, in contrast to Greyhounds, which have undetectable haptoglobin levels [24]. This difference in haptoglobin concentration may explain the differences described in Glob and TP between Galgos and Greyhounds. Further studies in serum protein electrophoresis and acute phase proteins are necessary in Galgos in order to investigate their differences in Glob and TP compared with other sighthounds.

Although a breed-by-breed approach to reference intervals could be unrealistic, there is, nevertheless, an increasing interest for clinical pathologists to perform exploratory studies to assess potential differences between breeds and, if the clinical relevance is sufficient, to establish new reference intervals [5, 9, 10]. Although some statistically significant differences were observed in serum biochemical profile in Galgos compared with other breeds, the clinical relevance remains unclear and new reference intervals were not calculated. An important limitation in this study is the sample size; however it may be difficult to achieve an appropriate sample size in veterinary medicine while simultaneously ensuring data quality. Another limitation of this study is that only healthy dogs should

be employed, and the protocol used could have failed to exclude dogs with subclinical disease. Despite these limitations, the information presented in this article should benefit clinicians by providing a better understanding of biochemical differences between Galgos and other breeds, and by helping to prevent misdiagnoses based on use of inappropriate reference intervals (p.e. Greyhound reference intervals in Galgos).

## CONCLUSIONS

Significant differences in serum biochemical profiles were observed in Galgos compared with dogs of other breeds, for which a breed-specific variation appears to be the most plausible explanation. The breed-specific features found in Galgos are different to those previously described in Greyhounds and other sighthounds. The clinical relevance of the statistical differences in Galgos remains uncertain as statistically significant does not always mean relevant from a medical point of view. The knowledge of these results in Galgos will help avoid misdiagnosis, since Galgos' laboratory work is often interpreted as if they were Greyhounds [6].

## REFERENCES

1. Bain B, Seed M, Godsland I. Normal values for peripheral blood white cell counts in women of four different ethnic origins. *J Clin Pathol* 1984;37:188–93.
2. Bain BJ. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. *J Clin Pathol* 1996;49:664–66.
3. Parker HG, Kukekova AV, Akey DT, Goldstein O, Kirkness EF, Baysac KC, et al. Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Res* 2007; 17: 1562-71.
4. Nielsen L, Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Kristensen AT. Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Vet Clin Pathol* 2010;39:20–28.
5. Sharkey LC, Gjevre K, Hegstad-Davies R, Torres S and Muñoz-Zanzi C. Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Vet Clin Pathol* 2009;38: 375–80.
6. Zaldívar-López S, Marín LM, Iazbik MC, Westendorf-Stingle N, Hensley S, Couto CG. Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Vet Clin Pathol* 2011; 40 :414-25.
7. Uhrikova I, Lačňakova A, Tandlerova K, Kuchařova V, Řehakova K, Janovad E et al. Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Aust Vet J* 2013;91:452–59.
8. Sheerer KN, Couto CG, Marin LM, Zaldívar-Lopez S, Iazbik MC, Dillberger JE et al. Haematological and biochemical values in North American Scottish Deerhounds. *J Small Anim Pract* 2013;54:354-60.
9. Geffre A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference intervals: a review. *Vet Clin Pathol* 2009; 38: 288-98.
10. Lefebvre HP. Greyhound-specific reference intervals: a good start to a long race. *Vet Clin Pathol* 2011;40; 405–406
11. Club nacional del Galgo Español. <http://www.galgoes.com/>. Accessed February 2015
12. Fédération cynologique internationale. <http://www.fci.be/>. Accessed February 2015
13. Hilppo M. Some haematological and clinical-chemical parameters of sighthounds (Afghan hound, saluki and whippet). *Nord Vet Med* 1986;38:148–55.
14. Porter JA, Canaday WR. Hematologic values in mongrel and Greyhound dogs being screened for research use. *J Am Vet Med Assoc* 1971;159:1603–06.
15. Heneghan T. Haematological and biochemical variables in the Greyhound. *Vet Sci Commun* 1977;1:277–84.
16. Shiel RE, Brennan SF, O'Rourke LG, McCullough M, Mooney CT. Hematologic values in young pretraining healthy Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 2007;36:274–77.
17. Campora C, Freeman KP, Lewis FI, Gibson G, Sacchini F, Sánchez-Vazquez MJ. Determination of haematological reference



- intervals in healthy adult greyhounds. *J Small Anim Pract* 2011;52:301-9
18. Iazbik MC, Couto CG. Morphologic characterization of specific granules in Greyhound eosinophils. *Vet Clin Pathol* 2005;34:140-3.
19. Feeman WE, Couto CG, Gray TL. Serum creatinine concentrations in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 2003;32:40-42.
20. Fayos M, Couto CG, Iazbik MC and Wellman ML. Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 2005;34:397-400
21. Dunlop MM, Sánchez-Vazquez MJ, Freeman KP, Gibson G, Sacchini F, Lewis F. Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. *J Small Anim Pract* 2011;52:4-10
22. Steiss JE, Brewer WG, Welles E, Wright JC. Hematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Compend Cont Educ Vet Pract* 2000;22:243-248.
23. Mesa Sánchez I, Zaldívar-López S, Couto CG, Gamito-Gómez A, Granados-Machuca MM, Lopez-Villalva I et al. Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *J Small Anim Pract* 2012; 53: 398-403
24. Zaldívar-López S, Mesa-Sánchez I, Galán-Rodríguez A, Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Granados-Machuca MM et al. Haptoglobin concentration in galgos and greyhounds. *Vet Rec* 2012; 12:170
25. Mesa-Sánchez I, Ruiz de Gopegui-Fernández R, Granados-Machuca MM, Galán-Rodríguez A. Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in galgos (Spanish greyhounds). *Vet Rec* 2014; 5: 174-77
26. Hinchcliff KW, Constable PD, DiSilvestro RA. Muscle injury and antioxidant status in sled dogs competing in a long-distance sled dog race. *Equine Comp Exerc Physiol* 2004;1:81-85.
27. Drost WT, Couto CG, Fischetti AJ, Mattoon JS, Iazbik C. Comparison of glomerular filtration rate between greyhounds and non-Greyhound dogs. *J Vet Intern Med* 2006; 20:544-6.
28. Clemente M, Marin L, Iazbik MC, Couto CG. Serum concentrations of IgG, IgA, and IgM in retired Racing Greyhound dogs. *Vet Clin Pathol* 2010;39:436-39.



#### **4.- Serum protein electrophoresis in Galgos**

Mesa-Sánchez I., Granados-Machuca M.M., Ruiz de Gopegui-Fernández R., Galán-Rodríguez A.

Submitted to Comparative Clinical Pathology (2015)

## **Serum protein electrophoresis in Galgos**

I. Mesa-Sánchez<sup>1</sup>, M. M. Granados-Machuca<sup>1</sup>, R. Ruiz de Gopegui-Fernández<sup>2</sup> and A. Galán-Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Medicine and Surgery, University of Córdoba, Córdoba, Spain. Campus Universitario de Rabanales. Ctra. Nacional IV-A, km 396, 14014 Córdoba, Spain. <sup>2</sup>Department of Animal Medicine and Surgery, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. Campus de la UAB, 08193, Bellaterra (Cerdanyola del Valles), Barcelona, Spain

Corresponding author:

Ignacio Mesa-Sánchez  
Department of Animal Medicine and Surgery,  
University of Córdoba,  
Córdoba, Spain.  
imesa84@gmail.com  
phone: 0034 957 218 387  
fax: 0034 957 211 093

### **ABSTRACT:**

**Background:** The Galgo is member of the sighthound family and is one of the most popular breeds in Spain. Several sighthound breeds have laboratory values that are outside the reference intervals established for the general population of dogs. Serum protein electrophoresis has not been studied in Galgos and they are often interpreted as if they were greyhounds. However, recent studies suggest that each sighthound breed presents its own specific laboratory features, and the extrapolation of the information described in greyhounds to other sighthound breeds could lead to misdiagnosis.

**Aims:** The aims of this study were: (1) to evaluate the results of serum protein electrophoresis in healthy Galgos and compare them with a control group of age- and gender-matched dogs of other breeds; and (2) to determine if serum protein electrophoresis profiles in Galgos are similar to those previously reported in greyhounds.

**Methods:** Serum protein electrophoresis using agarose gel was measured in 30 healthy Galgos and 22 age- and gender-matched control dogs of other breeds to assess any differences.

**Results:** Galgos had higher albumin,  $\beta$ -globulins and albumin to globulin ratio; and lower total globulins,  $\alpha$ 2-globulins and  $\gamma$ -globulins, than those in the control group.

**Conclusions:** These data confirm that Galgos have breed-specific features in serum protein electrophoresis, and that those values previously described in greyhounds should not be extrapolated to Galgos. The knowledge of these breed-specific differences will help avoid misdiagnoses when interpreting serum protein electrophoresis in Galgos.

**KEYWORDS:** Sighthound, Galgo, Protein, Albumin, Globulin, Dog.

### **INTRODUCTION:**

The Galgo is one of the most popular breeds in Spain, with approximately 500,000 dogs throughout the country (Club Nacional del

Galgo 2015). This breed is member of the sighthound family, which includes Afghan hound, Azawakh, Borzoi, Chart Polski, Galgo, Greyhound, Irish Wolfhound, Italian

greyhound, Magyar agár, Saluki, Scottish Deerhound, Sloughi and Whippet (Federation Cynologique Internationale 2015). Sighthounds have unique physiologic adaptations, likely due to selective breeding over the centuries for hunting and racing, which result in laboratory values that are outside reference intervals established for the general population of dogs. Different studies in several sighthound breeds have shown differences in haematological profiles, electrolyte concentrations, blood gas values, prevalence of dog erythrocyte antigens and serum biochemical profiles compared with dogs of other breeds (Hilppo 1986, Steiss et al. 2000, Iazbik et al. 2010, Giori et al. 2011, Zaldívar-López et al. 2011a, Zaldívar-López et al. 2011b, Uhrikova et al. 2013, Sheerer et al. 2013). Although several studies have reported differences in total proteins and total globulins in sighthounds (Porter and Canaday 1971, Hilppo 1986, Steiss et al. 2000, Uhrikova et al. 2013, Sherer et al. 2013), to the authors' knowledge, only one research has been published in serum protein electrophoresis; Fayos et al. (2005) showed significantly lower total serum globulins in greyhounds owing to decreases in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions compared with dogs of other breeds. More recently, Couto et al. (2009) found that the lower  $\alpha$ -globulin concentration in greyhounds could be due to low concentrations of haptoglobin and acid-soluble glycoprotein, since both proteins migrate in the  $\alpha$ -globulin fraction. On the other hand, the lower  $\beta$ -globulin concentration in greyhounds could be secondary to low IgA and IgM levels (Clemente et al. 2010).

Previously, it was hypothesized that specific laboratorial differences in greyhounds might be extrapolated to other sighthound breeds (Zaldívar-López et al. 2011a). However, recent studies suggest that each sighthound breed presents its own specific laboratory features, and the extrapolation of greyhound clinicopathological information to other sighthounds could lead to misdiagnosis (Uhrikova et al. 2013, Sheerer et al. 2013, Mesa-Sánchez et al.

2014). Previous studies have shown that Galgos have similar haematological values than those found in greyhounds (Mesa-Sánchez et al. 2012); however, they have different electrolyte concentrations, blood gas values, acid-base balance, and prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1.1, compared with those previously described in greyhounds (Mesa-Sánchez et al. 2012, 2014). Interestingly, Galgos also have slightly higher haptoglobin concentration than the general population of dogs, in contrast to greyhounds, which have undetectable haptoglobin levels (Zaldívar-López et al. 2012). As Galgos have higher haptoglobin than greyhounds and other breeds, and this protein migrates in the  $\alpha$ -globulin fraction, the authors hypothesised that Galgos have breed-specific differences in serum protein electrophoresis, but these differences are not necessarily the same previously described in greyhounds. Therefore, the aims of this study were: (1) to evaluate the results of serum protein electrophoresis in healthy Galgos and compare them with a control group of age- and gender-matched dogs of other breeds; and (2) to determine if serum protein electrophoresis profiles in Galgos are similar to those previously reported in greyhounds.

## **MATERIAL AND METHOD**

We measured serum protein electrophoresis in 30 clinically healthy Galgos and 22 age- and gender-matched control dogs of other breeds. The following breeds were represented in the control group: mixed breed (5), golden retriever (4), german shepherd dog (3), boxer (2), labrador retriever (2) and one each of alaskan malamute, bernese mountain, doberman, great dane, belgian shepherd, and english setter. All dogs had similar lifestyles (i.e. family pets) and they were part of the Blood Donor Program at the Clinical Veterinary Hospital at the University of XXXXX (Spain). For inclusion in the study, dogs were required to be between 1 and 9 years of age, and they were considered to be healthy on the basis of their clinical

histories, physical examination, CBC, blood gases and acid-base balance and biochemical profile at the time of sample collection. Serology for Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophylum, Borrelia burgdorferi, Dirofilaria immitis (Canine SNAP 4Dx Test, IDEXX Laboratories), and Leishmania infantum (Canine SNAP Leishmania Test, IDEXX Laboratories) were negative in all dogs. They were current on vaccinations and deworming. All blood samples were collected after signed informed owner consent. This study was conducted according to European legislation (86/609/EU).

Fasting blood samples were collected from the jugular vein and placed into tubes without anticoagulant. The serum was removed immediately by centrifugation (1500g for 10 minutes), and frozen at -20°C until analysis. The biuret method was used to measure total serum proteins. Serum protein electrophoresis using agarose gel was performed for determining protein fractions. Each fraction of proteins was calculated by densitometry using the area under the curve on the electrophoretogram multiplied by the total serum protein concentration. The total globulin concentration was calculated by subtracting the albumin from the total protein concentration.

The results were evaluated statistically using the statistical software SPSS 15.0. The

dogs were divided into two groups, Galgos and other breeds, and descriptive statistics and a normality test (Kolmogorov-Smirnov test) were performed for all parameters. A Student's t-test was used to compare the concentration of the different protein fractions between groups. Levene's test was used to assess the equality of variances. The level of significance was set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

The study included 30 Galgos and 22 dogs of other breeds. The Galgo group included 17 males (56.7%) and 13 females (43.3%), with a mean age of 4.2 years (range 2 to 8 years), and a mean weight of 27.3 kg (range 25 to 32 kg). The other-breed group included 13 males (59.1%) and 9 females (40.9%), with a mean age of 3.8 years (range 1 to 7 years), and a mean weight of 31.6 kg (range 26 to 52 kg).

The serum protein electrophoresis data for Galgos and other breeds are summarized in Table 1. All parameters were normally distributed. Galgos had higher albumin ( $p < 0.01$ ),  $\beta$ -globulins ( $p < 0.01$ ) and albumin to globulin ratio ( $p < 0.01$ ); and lower total globulins ( $p < 0.01$ ),  $\alpha$ 2-globulins ( $p < 0.01$ ) and  $\gamma$ -globulins ( $p < 0.01$ ) than those in the control group. No significant differences between Galgos and other breeds were found in total protein and  $\alpha$ 1-globulins (Table 1).

	Galgos		Other breeds		P Value
	Mean	SD	Mean	SD	
<b>Total proteins (g/dL)</b>	6.98	0.73	6.86	0.67	0.569
<b>Albumin (g/dL)</b>	3.54	0.53	2.97	0.54	<0.01
<b>Total globulins (g/dL)</b>	3.44	0.51	3.91	0.56	<0.01
<b><math>\alpha</math>1-globulins (g/dL)</b>	0.41	0.13	0.44	0.21	0.650
<b><math>\alpha</math>2-globulins (g/dL)</b>	0.54	0.19	1.06	0.17	<0.01
<b><math>\beta</math>-globulins (g/dL)</b>	1.90	0.44	1.47	0.36	<0.01
<b><math>\gamma</math>-globulins (g/dL)</b>	0.58	0.18	0.95	0.34	<0.01
<b>Albumin to globulin ratio</b>	1.05	0.24	0.78	0.21	<0.01

Table 1. Results of serum protein electrophoresis measured in 30 Galgos and 22 other-breed dogs

## DISCUSSION

Protein is the most abundant component of plasma and it is composed of albumin and globulins. At the same time, total globulins are made up of  $\alpha$  -,  $\beta$  - and  $\gamma$  -globulins; and each globulin fraction is composed of a mix of individual proteins of various types. Serum protein electrophoresis is currently regarded as the standard of reference for detecting changes in these protein fractions, and it can provide important information in the diagnosis, prognosis and monitoring of domestic animals (Eckersall 2008). Because dysproteinemia is associated with several diseases, it is important to recognize breed-specific differences in which the normal protein concentration may fall outside the reference interval for other dog breeds. Healthy greyhounds have low total serum globulin concentrations due to low  $\alpha$  - and  $\beta$  -globulin fractions (Fayos and other 2005). It was previously hypothesized that, because of the apparent shared ancestry (Parker et al. 2007), laboratorial differences in greyhounds might be extrapolated to other sighthound breeds (Zaldívar-López and other 2011a). However, recent studies suggest that the extrapolation of the greyhound clinicopathological features to other sighthound breeds could lead to misdiagnosis (Uhríkova et al. 2013, Sheerer et al. 2013). For these reasons, in the present study, serum protein electrophoresis in Galgos and in a control group of other breeds were compared to assess any differences, and to determine if serum protein electrophoresis profiles in Galgos are similar to those previously reported in greyhounds. Galgos had higher albumin,  $\beta$ -globulins and albumin to globulin ratio; and lower total globulins,  $\alpha$ 2-globulins and  $\gamma$ -globulins than those of the other breeds. No significant differences were found in total protein and  $\alpha$ 1-globulins. These data confirm that Galgos have breed-specific features in serum protein electrophoresis, and that the values previously described in greyhounds should not be applied to Galgos. These idiosyncrasies in Galgos may be evolutionary due to selective breeding for hunting in Spain since the Middle Ages (Federation Cynologique Internationale 2015).

Galgos had higher albumin concentration compared with dogs of other breeds. The reason for this remains unclear. Dehydration, which could be the most probable cause, was excluded because Galgos showed no signs of dehydration on physical examination, and because globulin fractions were not increased proportionately to albumin concentration. Previous studies in greyhounds have shown no significant difference in albumin concentration compared with other breeds (Fayos et al. 2005). However, Uhríkova et al. (2013) showed that albumin concentration was higher than the laboratory reference interval in 12.5–70% of the dogs of eight different sighthound breeds. Therefore, a high albumin concentration could be considered a breed-specific feature in Galgos and other sighthounds, in contrast to greyhounds.

Galgos had lower total serum globulin concentration than others breeds. This feature was consistent with previous studies in other sighthound breeds (Steiss et al. 2000, Fayos et al. 2005, Clemente et al. 2010, Uhríkova et al. 2013, Sherer et al. 2013). The underlying mechanism for the lower globulin concentration in sighthounds has not been determined. Different theories for justify hypoglobulinemia have been suggested, such as the climate, physiological conditions (e.g. pregnancy, lactation or hormone levels) or environmental conditions (stress, diet or exercise); however, globulin levels remained low in the different studies regardless of these factors (Heneghan 1977, Fayos et al. 2005, Zaldívar-López et al. 2011a). Ilkiw et al. (1989) suggested that hypoglobulinemia could be the result of plasma volume expansion associated with training; however, this theory does not explain why hypoglobulinemia is also present in sighthounds without training (Pape et al. 1986). Nowadays, an adaptive mechanism to decrease serum viscosity in these breeds with higher haematocrit and blood viscosity is considered the most likely cause of low globulin concentrations in sighthounds (Bodey and Rampling 1998, Fayos y col. 2005, Zaldívar-López y col 2011a). Nevertheless, the globulin fractions involved in the lower total globulin concentration do not seem to be the same in each sighthound breed; while in greyhounds the lower total globulin concentration seems to be

related to lower  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions (Fayos et al. 2005); in Galgos in our study, the lower total globulin concentration was related with lower  $\alpha$ 2- and  $\gamma$ -globulins.

Galgos had lower  $\alpha$ 2-globulins compared with those in other breeds. The  $\alpha$ 2-globulin fraction contains  $\alpha$ 2-macroglobulin, haptoglobin, ceruloplasmin,  $\alpha$ 2-lipoprotein and C protein (Eckersall 2008). A decrease in  $\alpha$ 2-globulins can be found in dogs with severe hepatitis and cirrhosis, due to a decreased production; or in dogs with haemolytic anaemia, as haptoglobin binds with free haemoglobin and these complexes are rapidly removed by phagocytes (Ceron et al. 2005). However, Galgos in our study had no clinical or laboratory signs of these diseases, and a breed-specific feature seems the most likely explanation of the decreased  $\alpha$ 2-globulin fraction in Galgos. A low  $\alpha$ 2-globulin concentration has also been described in greyhounds (Fayos et al. 2005), and a low concentration of haptoglobin has been proposed to explain this feature in this breed (Couto et al. 2009). However, a recent study showed that Galgos have slightly higher haptoglobin concentration than the general population of dogs, in contrast to greyhounds, which have undetectable haptoglobin levels (Zaldívar-López et al. 2012). Therefore, further studies in Galgos are necessary to identify the individual proteins associated with the low  $\alpha$ 2-globulin concentration, and its clinical significance.

Galgos had higher  $\beta$ -globulins than dogs of other breeds. The  $\beta$ -globulin fraction is composed of transferrin,  $\beta$ -lipoprotein, hemopexin, ferritin, complement, C-reactive protein and a small fraction of IgM and IgA. An increase in  $\beta$ -globulin fraction alone is infrequent, and it could be found in active liver disease, suppurative dermatopathies, nephrotic syndrome or neoplasia (Eckersall 2008); however, Galgos in our study showed no clinicopathological signs of these diseases at the time of sample collection or in subsequent blood donations. Increased  $\beta$ -globulins can also be seen secondary to an increase in transferrin in iron deficiency anaemia, but Galgos in this study showed no decreased haematocrit, hypochromia or microcitosis, they were current on deworming, and blood sampling were performed before the

first blood donation. An increase in this fraction can also be associated with an increase in  $\beta$ -lipoprotein in hypercholesterolemia; however it was considered unlikely as Galgos present lower cholesterol concentration than other breeds (unpublished data). Haemolysis causes interference in the  $\beta$ -globulin regions, but samples with obvious haemolysis were not employed in this study (Eckersall 2008). Therefore, although the reason for increased  $\beta$ -globulins in Galgos remains unknown, a breed-specific feature could be a reasonable explanation. In contrast to Galgos, a lower concentration of  $\beta$ -globulins has been described in greyhounds (Fayos et al. 2005), and it seems to be associated with lower IgA, IgM and transferrin concentrations compared with dogs of other breeds (Clemente et al. 2010, Caro et al. 2013). This low transferrin concentration in greyhounds has been associated with a higher risk for osteosarcoma in this breed (Caro et al. 2013). Interestingly, this predisposition to osteosarcomas has not been described in Galgos; therefore, different levels of transferrin could be involved in the different  $\beta$ -globulin concentrations between Galgos and greyhounds. Further studies in individual proteins that make up  $\beta$ -globulins are necessary in Galgos in order to investigate the higher concentration present in this breed.

Galgos had lower  $\gamma$ -globulins than dogs of other breeds. Because most of the  $\gamma$ -globulin fraction is composed of immunoglobulins, a decrease of  $\gamma$ -globulins could be observed on serum protein electrophoresis of dogs with immunodeficiencies (German et al. 1998); however, Galgos in our study had no history of recurrent infections. Decreased concentration of  $\gamma$ -globulins in this breed may be caused by increased albumin concentration, by a negative feedback mechanism involving an oncotic pressure receptor on hepatocytes, but the mechanism has not been well established (Rothschild 1988, Stockham and Scott 2008). This mechanism could decrease the viscosity of the serum caused by higher albumin concentration in Galgos compared with other breeds, resulting in better blood flow in capillaries (Bodey and Rampling 1998, Fayos y col. 2005).



Results of serum protein electrophoresis in this study could be influenced by several factors. Only healthy dogs should be employed in this study, but the protocols used may have failed to exclude dogs with subclinical disease. Haemolysis and lipaemia cause interference in the  $\beta$ - and  $\alpha$ -globulin regions, respectively; however samples with obvious haemolysis or lipaemia were not employed. Age of dogs is other important factor in serum protein electrophoresis since total serum protein and globulin concentrations increase, and albumin concentration decreases with advancing age; however, both groups in this study had a similar age. Testosterone and estrogens also can affect the protein fractions, but both groups were gender-matched. Fever could cause a decrease in total serum protein and albumin, and an increase in  $\alpha_2$ -globulin; however physical examinations were normal in all the animals of this study. The plasma proteins are also sensitive to nutritional influences, but these changes are often subtle and difficult to detect and interpret. Others hormones such as growth hormone, thyroxine or cortisol could also affect the results of serum protein electrophoresis and their influences were not measured in this study (Eckersall 2008).

Despite the limitations, the information present in this study should benefit clinicians by providing a better understanding of serum protein electrophoresis in Galgos. For example, dogs with a acute phase response secondary to leishmaniasis, one of the most common infectious diseases in Spain, could show decreased albumin and increased  $\alpha_2$ - and  $\gamma$  – globulins (Paltrinieri et al. 2010); however, Galgos with this disease could have protein fractions within the reference intervals established for the general canine population, and these abnormalities could be overlooked. Consequently, it is important to know that the globulin fractions for healthy Galgos are potentially different than those of the general population of dogs to avoid erroneous conclusions when interpreting their serum protein electrophoresis.

## CONCLUSIONS

Significant differences in serum protein electrophoresis, for which a breed-specific variation appears to be the most plausible explanation, were observed in Galgos compared with dogs of other breeds. The breed-specific features found in Galgos are different to those previously described in greyhounds. These results should be kept in mind when evaluating both healthy and sick Galgos since the knowledge of these breed-specific differences will help avoid misdiagnoses. Additional studies are needed to identify the individual proteins associated with the different globulin fractions in Galgos.

**Conflict of Interest:** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval:** All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

## REFERENCES

1. Bodey AR, Rampling, MW (1998) A comparative study of the haemorheology of various breeds of dog. *Clin Hemorheol Microcirc* 18: 291–298
2. Caro JT, Marín LM, Iazbik MC, Zaldivar-López S, Borghese H, Couto CG (2013) Markers of iron metabolism in retired racing Greyhounds with and without osteosarcoma. *Vet Clin Path* 42: 360–363
3. Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S (2005) Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Path* 34: 85–99
4. Clemente M, Marin L, Iazbik MC, Couto CG (2010) Serum concentrations of IgG, IgA, and IgM in retired Racing Greyhound dogs. *Vet Clin Path* 39: 436–439
5. Club nacional del Galgo Español (2015) <http://www.galgoes.com/>. Accessed February 2015
6. Couto CG, Ceron JJ, Parra MD, Martinez-Subiela S, Iazbik MC (2009) Acute phase protein concentrations in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Path* 38: 219–223

7. Eckersall PD (2008) Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th edn. Eds J.J. Kaneko, J.W. Harvey, M.L. Bruss. San Diego, CA: Academic Press Inc. pp 117–156
8. Fayos M, Couto CG, Iazbik MC, Wellman ML (2005) Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Path* 34: 397–400
9. Fédération Cynologique Internationale (2015) <http://www.fci.be/>. Accessed February 2015
10. German AJ, Hall EJ, Day MJ (1998) Measurement of IgG, IgM and IgA concentrations in canine serum, saliva, tears and bile. *Vet Immunol Immunopathol* 64: 107–121
11. Giori L, Gironi S, Scarpa P (2011) Grey eosinophils in sighthounds: frequency in 3 breeds and comparison of eosinophil counts determined manually and with 2 hematology analyzers. *Vet Clin Path* 40: 475–483
12. Heneghan T (1977) Haematological and biochemical variables in the Greyhound. *Vet Res Commun* 1: 277–284
13. Hilppo M (1986) Some haematological and clinical-chemical parameters of sighthounds (Afghan hound, saluki and whippet). *Nord Vet Med* 38: 148–155
14. Iazbik MC, O'donnell M, Marin L, Zaldivar S, Hudson D, Couto CG (2010) Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Path* 39: 433–435
15. Ilkiw JE, Davis PE, Church DB (1989) Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *Am J Vet Res* 50: 583–586
16. Mesa-Sánchez I, Zaldívar-López S, Couto CG, Gamito-Gómez A, Granados-Machuca MM, Lopez-Villalba I, Galán-Rodríguez A (2012) Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *J Small Anim Pract* 53: 398–403
17. Mesa-Sánchez I, Ruiz De Gopegui-Fernández R, Granados-Machuca MM, Galán-Rodríguez A (2014) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in galgos (Spanish greyhounds). *Vet Rec* 5: 174
18. Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zatelli A, Zini E (2010) Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 236: 1184–1191
19. Pape LA, Rippe JM, Walker WS, Weiner BH, Ockene IS, Paraskos JA, Alpert JS (1984) Effects of the cessation of training on left ventricular function in the racing Greyhound. Serial studies in a model of cardiac hypertrophy. *Basic Res Cardiol* 79: 98–109
20. Parker HG, Kukekova AV, Akey DT, Goldstein O, Kirkness EF, Baysac KC, Mosher DS, Aguirre GD, Acland GM, Ostrander EA (2007) Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Res* 17: 1562–1571
21. Porter JA, Canaday WR (1971) Hematologic values in mongrel and Greyhound dogs being screened for research use. *J Am Vet Med Assoc* 159: 1603–1606
22. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS (1988) Serum albumin. *Hepatology* 8: 385–401
23. Sheerer KN, Couto CG, Marin LM, Zaldívar-López S, Iazbik MC, Dillberger JE, Frye M, Denicola DB (2013) Haematological and biochemical values in North American Scottish Deerhounds. *J Small Anim Pract* 54: 354–360
24. Steiss JE, Brewerw G, Welles E, Wright JC (2000) Hematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Comp Cont Educ Pract* 22: 243–248
25. Stockham SL, Scott MA (2008) Proteins. In: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd Edn. Eds S.L. Stockham, M.A. Scott. USA: Blackwell Publishing, Ames, IA, USA. pp 369–413
26. Uhrikova I, Lačňakova A, Tandlerova K, Kuchařova V, Řehakova K, Janovad E, Doubeka J (2013) Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Aust Vet J* 91: 452–459
27. Zaldívar-López S, Marín LM, Iazbik MC, Westendorf-Stingle N, Hensley S, Couto CG (2011a) Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Vet Clin Path* 40: 414–425
28. Zaldívar-López S, Chisnell HK, Couto CG, Westendorfstingle N, Marín L, Iazbik MC, Cooper ES, Wellman ML, Muir WW (2011b) Blood gas analysis and cooximetry in retired-racing greyhounds. *J Vet Emerg Crit Care* 21: 24–28

29. Zaldívar-López S, Mesa-Sánchez I, Galán-Rodríguez A, Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Granados-Machuca MM, Couto CG (2012) Haptoglobin concentration in Galgos and greyhounds. *Vet Rec* 12: 170.

## **5.- Haptoglobin concentration in Galgos and Greyhounds**

Zaldívar-López S., Mesa-Sánchez I., Galán-Rodríguez A., Cerón J.J.,  
Martínez-Subiela S., Granados-Machuca M.M., Couto C.G.

Veterinary Record. 12; 170 (2012)

# Short Communications

## Haptoglobin concentration in galgos and greyhounds

S. Zaldívar-López, I. Mesa-Sánchez, A. Galán-Rodríguez, J. J. Cerón, S. Martínez-Subiela, M. M. Granados-Machuca, C. G. Couto

Greyhounds and galgos Españoles (Spanish greyhounds, GEs) share common origins, and are thus closely related breeds (same breed group and section, according to the Fédération Cynologique Internationale).

Clinicopathological peculiarities of greyhounds have been extensively studied over the last decade. These haematological, haemostatic and biochemical idiosyncrasies have been recently reviewed (Zaldívar-Lopez and others 2011). Despite the similarities between GEs and greyhounds, there are selected phenotypical and physiological differences between them. For example, while greyhounds have a very low frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 on the surface of the red blood cells (<15 per cent) (Iazbik and others 2010), GEs have a high frequency (>30 per cent) (Mesa and others 2009).

In 2009, the authors reported that greyhounds have lower serum haptoglobin (Hp) concentrations than non-greyhound dogs; Hp was measured by colorimetric and immunoturbidimetric methods, and confirmed through electrophoresis (Couto and others 2009). Besides systemic immunomodulatory effects (ie, fever, leucocytosis, etc), acute phase response includes changes in the concentrations of acute phase proteins (APPs), which are classified as negative (downregulated) or positive (upregulated). Hp is a positive APP, whose concentration increases rapidly in response to inflammation or tissue injury (Martínez-Subiela and others 2002), in order to remove the noxious stimuli, and restore homeostasis. Hp also acts as a free haemoglobin (Hb) scavenger, preventing tissue oxidative damage and renal dysfunction (Nielsen and others 2010), and has bactericidal effect in infected wounds (by limiting the availability of iron for bacterial

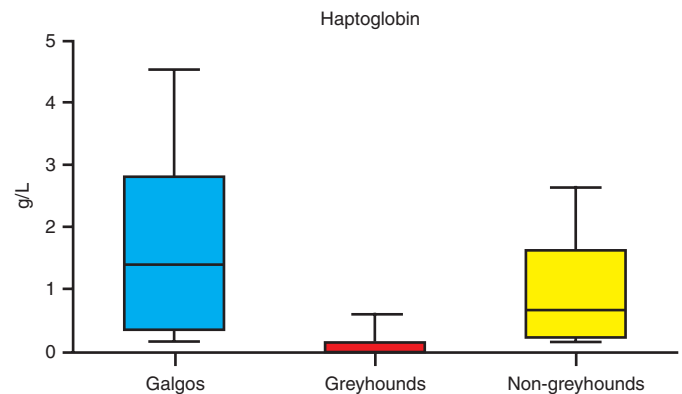


FIG 1: Dot plot graph showing haptoglobin concentration in galgos from this study (mean 1.77 g/l; sd 1.41 g/l). For visual comparison, data (greyhounds and non-greyhounds) from previous publication (Couto and others 2009) were included in the graph. Whiskers represent ranges; therefore, the box contains the central 50 per cent of the data, and whiskers the remaining 50 per cent; the line inside indicates the median

growth through Hb-binding) (Murata and others 2004). Hp in dogs is a moderate APP (Conner and others 1988), and changes in concentration have been shown to be of diagnostic and prognostic value in inflammatory processes, such as infectious diseases (leishmaniosis (Martínez-Subiela and others 2002), trypanosomiasis (Ndung'u and others 1991) and after surgical trauma (Ceron and others 2005).

Based on the historical, phenotypical and physiological similarities between the two subbreeds, the authors hypothesised that the low Hp concentration is a common feature of the sighthound group, and thus GEs will have similar Hp concentration to greyhounds. The objective of this study was to measure Hp in GEs, and determine if they are similar to previously reported Hp values in greyhounds.

Venous samples were collected from the jugular vein of 21 healthy adult GEs at the Clinical Veterinary Hospital at the University of Córdoba. Samples were processed within one hour of collection: blood was immediately placed into tubes with EDTA anticoagulant, and centrifuged at 1300 g for 10 minutes; plasma was aliquoted into Eppendorf tubes and immediately frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The following day, all the samples were sent overnight as a batch to the Veterinary Clinical Pathology Laboratory at the Veterinary Hospital at the University of Murcia for analysis. Samples were kept frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis, which was performed three days later. Plasma Hp was measured using a colorimetric Hb-binding method (Tridelta Phase, Tridelta Development). Crossreactivity between the polyclonal goat antihuman Hp antiserum and canine Hp was previously demonstrated by radial immunodiffusion and ELISA tests (Teclès and others 2007). The analysis was performed using a biochemistry autoanalyser (Cobas Mira Plus; ABX Diagnostics), and results were reported in grams per litre (g/l). The same samples were analysed again the following day in order to evaluate the intra-individual variability through coefficient of variation (CV). GraphPad Prism was the software used for statistical analysis. GE data were analysed with descriptive statistics and tested for normality using the D'Agostino & Pearson omnibus normality test.

Since there were two Hp measurements (one day apart), mean values for each dog were calculated, and that was the value used for descriptive statistics. Data in GEs were normally distributed, with a mean of 1.78 g/l (sd, 1.41 g/l), and ranging from 0.13 to 4.52 g/l. Intra-individual CV over the two analyses was very low (8.85 per cent). Raw data (greyhounds and non-greyhounds) from previous publication (Couto and others 2009) were used for the graphical representation (Fig 1).

GEs have plasma Hp concentrations similar to those in other dogs (Ceron and others 2005), in contrast to their closely related sighthound

Veterinary Record (2012) 170, 496a

doi: 10.1136/vr.100411

S. Zaldívar-López,

C. G. Couto,

Veterinary Clinical Sciences, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

I. Mesa-Sánchez,

A. Galán-Rodríguez,

M. M. Granados-Machuca,

Animal Medicine and Surgery, University of Cordoba, Cordoba, Spain

J. J. Cerón,

S. Martínez-Subiela,

Animal Medicine and Surgery, University of Murcia, Spain

Zaldívar-López is also at The Research Institute at Nationwide Children's Hospital, Columbus, OH, USA

Couto is also at The Comprehensive Cancer Center, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

E-mail for correspondence: sara.zaldiv@gmail.com

Provenance: not commissioned; externally peer reviewed

Accepted February 20, 2012

Published Online First April 2, 2012

groupmates (greyhounds), which have very low or undetectable Hp levels (Couto and others 2009). Surprisingly, GEs have slightly higher Hp than other dog breeds (from the 21 GEs, only four were outside the upper limit of the canine reference interval). This elevation could be breed-specific, or due to a subclinical not previously detected inflammation or infection in some dogs (although all dogs were clinically healthy). Low serum protein concentration in former racing greyhounds (Steiss and others 2000) has been shown to be due to a lower globulin concentration (primarily, serum  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin concentrations) (Fayos and others 2005), and the lower Hp concentration likely contributes to the low  $\alpha$ -globulin concentrations in the breed (Couto and others 2009). Further studies are warranted in order to investigate the relationship between serum proteins and Hp in GEs.

Hp has two physiological roles: it is a free Hb scavenger, preventing oxidative damage (and consequent hypertension) and renal dysfunction when there is free Hb circulating due to intravascular haemolysis or red blood cell senescence; and it has immunomodulatory effects, since it is an APP. Hp concentration can be used as diagnostic and prognostic marker in various inflammatory processes. Hp concentration in healthy dogs is 0 to 3 g/l (Ceron and others 2005); the magnitude of response to stimuli is a two- to 10-fold increase in plasma concentration occurring in 24 hours, and peaking at three to four days (Ceron and others 2005). A significant increase in serum Hp concentration has been demonstrated after administration of glucocorticoids, anthelmintics and phenobarbital (Martinez-Subiela and others 2004), and a significant positive correlation exists between Hp and the WBC and neutrophil counts (Ndung'u and others 1991).

Hp is more stable than the cellular components of blood; thus, assays can be performed on frozen serum or plasma samples. However, a decrease in Hp concentration in canine serum stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  has been described; thus,  $-70^{\circ}\text{C}$  has been suggested for prolonged storage (Solter and others 1991). In this study, samples were processed immediately, and they were kept at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysed to avoid storage changes. Little variation was found between the two measurements of each sample (duplicate measurements, one day apart), as reflected by the low CVs. In dogs with intravascular haemolysis (ie, immune haemolytic anaemia), Hp concentrations are lower because it binds strongly to Hb, and the Hb-Hp complexes are removed from the circulation by macrophages via CD163 (Harvey and West 1987). Considering the previously reported short half-life of greyhound RBCs (Novinger and others 1996), the low Hp concentration could be attributed to chronic haemolysis; however, other indicators of haemolysis (ie, reticulocytosis, hyperbilirubinaemia, increased RDW, etc.) are absent in greyhounds (Zaldivar-Lopez and others 2011), and more recent reports have shown no differences between greyhounds and other breeds' RBC half-life (Garon and others 2010). Although the mechanism of hypohaptoglobinaemia in greyhounds is still unclear, the authors have ongoing molecular studies to investigate if the underlying cause is a decreased Hp gene (*HP*) expression.

Although there is little information in the scientific literature regarding GEs (Weidmeyer and Solter 1996), given the phenotypic similarities between these two sighthound breeds (virtually indistinguishable to the untrained eye), and the difference in Hp concentration, the authors believe that the comparison between greyhounds and GEs could be an interesting natural biological model system to study the physiology of Hp in the canine species. Further studies including more animals from a variety of origins and lifestyles (greyhounds were all retired racers) could help to better understand the Hp-Hb physiology between greyhounds and GEs, potentially giving new insights and encouraging research on treatments for common Hb-scavenging-dependent diseases in dogs (ie, hypertension, thrombosis or infectious diseases). Characterisation and understanding of these mechanisms in greyhounds will be especially beneficial, since many of their peculiarities or common diseases (ie, high creatinine concentration, thromboembolism, hypertension) could be linked to increased free-Hb oxidative damage to tissues (ie, blood vessels, kidney).

Differences between greyhounds and GEs found in this study are of great importance when interpreting laboratory results, since GEs' laboratory work is often interpreted as if they were greyhounds (due to their similarities). As an example, Hp values within the normal range for a GE Galgo (or any other breed) would be elevated for a greyhound.

## Acknowledgements

Supported in part by Caja Madrid Scholarship Program (Fundación Caja Madrid, Madrid, Spain; Dr Zaldivar-López); and by the Vice-chancellor of Internationalization Funds (University of Cordoba, Spain)

This work has been presented at the 21st Annual Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals (Sevilla, Spain, Sept. 8-10, 2011)

## References

- CERON, J. J., ECKERSALL, P. D. & MARTÍNEZ-SUBIELA, S. (2005) Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **34**, 85-99
- CONNOR, J. G., ECKERSALL, P. D., FERGUSON, J. & DOUGLAS, T. A. (1988) Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Research in Veterinary Science* **45**, 107-110
- COUTO, C. G., CERÓN, J. J., PARRA, M. D., MARTÍNEZ-SUBIELA, S., IAZBIK, M. C. & LAZBIK, M. C. (2009) Acute phase protein concentrations in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **38**, 219-223
- FAYOS, M., COUTO, C. G., IAZBIK, M. C. & WELLMAN, M. L. (2005) Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **34**, 397-400
- GARON, C. L., COHN, L. A. & SCOTT, M. A. (2010) Erythrocyte survival time in Greyhounds as assessed by use of *in vivo* biotinylation. *American Journal of Veterinary Research* **71**, 1033-1038
- HARVEY, J. W. & WEST, C. L. (1987) Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs. *Veterinary Pathology* **24**, 90-92
- IAZBIK, M. C., O'DONNELL, M., MARIN, L., ZALDIVAR, S., HUDSON, D. & COUTO, C. G. (2010) Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **39**, 433-435
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S., GINEL, P. J. & CERÓN, J. J. (2004) Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *Veterinary Record* **154**, 814-817
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S., TECLES, F., ECKERSALL, P. D. & CERÓN, J. J. (2002) Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record* **150**, 241-244
- MESA, I., GRANADOS, M. M., DOMÍNGUEZ, J. M., MARTÍN-SUÁREZ, E. M. & GALÁN, A. (2009) Determination of 1.1 DEA in Galgo dogs in the province of Cordoba using Rapidvet-H canine DEA 1.1 (DMS) and quick test DEA 1.1 (Alveida). In *V Congreso Andaluz de Veterinarios*
- MURATA, H., SHIMADA, N. & YOSHIOKA, M. (2004) Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal (London, England: 1997)* **168**, 28-40
- NDUNG'U, J. M., ECKERSALL, P. D. & JENNINGS, F. W. (1991) Elevation of the concentration of acute phase proteins in dogs infected with *Trypanosoma brucei*. *Acta Tropica* **49**, 77-86
- NIELSEN, M. J., MØLLER, H. J. & MOESTRUP, S. K. (2010) Hemoglobin and heme scavenger receptors. *Antioxidants & Redox Signaling* **12**, 261-273
- NOVINGER, M. S., SULLIVAN, P. S. & MCDONALD, T. P. (1996) Determination of the lifespan of erythrocytes from greyhounds, using an *in vitro* biotinylation technique. *American Journal of Veterinary Research* **57**, 739-742
- SOLTER, P. F., HOFFMANN, W. E., HUNGERFORD, L. L., SIEGEL, J. P., ST DENIS, S. H. & DORNER, J. L. (1991) Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *American Journal of Veterinary Research* **52**, 1738-1742
- STEISS, J. E., BREWER, W. G., WELLES, E. & WRIGHT, J. C. (2000) Haematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Compendium of Continuing Education in Veterinary Practice* **22**, 243-248
- TECLES, F., SUBIELA, S. M., PÉTRUCCI, G., PANIZO, C. G. & CERÓN, J. J. (2007) Validation of a commercially available human immunoturbidimetric assay for haptoglobin determination in canine serum samples. *Veterinary Research Communications* **31**, 23-36
- WEIDMEYER, C. E. & SOLTER, P. F. (1996) Validation of human haptoglobin immunoturbidimetric assay for detection of haptoglobin in equine and canine serum and plasma. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **25**, 141-146
- ZALDIVAR-LÓPEZ, S., MARÍN, L. M., IAZBIK, M. C., WESTENDORF-STINGLE, N., HENSLEY, S. & COUTO, C. G. (2011) Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology/American Society for Veterinary Clinical Pathology* **40**, 414-425

**CAPÍTULO IV – REPERCUSIÓN DE LAS  
PARTICULARIDADES CLÍNICOPATOLÓGICAS  
DEL GALGO ESPAÑOL EN SU SELECCIÓN  
COMO DONANTE DE SANGRE**

Tradicionalmente el Galgo Español ha sido considerado como la raza donante de sangre por excelencia en España debido a su semejanza fenotípica con el Greyhound y por la extrapolación de determinados datos previamente descritos en dicha raza. El Galgo Español comparte muchas de las características anatómicas y comportamentales que definen al Greyhound como un buen donante de sangre (peso superior a 25 kg, conformación anatómica delgada con venas fácilmente accesibles y un carácter tranquilo que permite realizar extracciones de sangre sin necesidad de sedación). Sin embargo, el Greyhound presenta una serie de particularidades laboratoriales específicas que lo convierten en el donante ideal y que hasta la fecha no habían sido estudiadas en el Galgo Español. El Greyhound presenta un elevado valor Htc, mayor capacidad de transporte de oxígeno, un bajo porcentaje de individuos DEA 1.1 positivos y un alto porcentaje de individuos que podrían ser considerados donantes universales (Dodds 1994, Kahler 1994, Garon y col. 2010, Iazbik y col. 2010). Por otro lado, los Greyhounds presentan una menor concentración de factor X, fibrinógeno y factor de von Willebrand que otras razas, sin embargo, estas diferencias no se consideran suficientemente significativas como para excluir a dicha raza como donante de plasma fresco congelado (Walton y col. 2014). Los resultados de la presente Tesis Doctoral describen una serie de particularidades específicas en el análisis laboratorial del Galgo Español que deberían ser tenidas en cuenta en su selección como donante de sangre.

Los Galgos Españoles presentan un elevado porcentaje de presentación del antígeno eritrocitario canino DEA 1.1 (51.7%) respecto a los Greyhounds (13.3%), por lo que se considera imprescindible la tipificación del grupo sanguíneo DEA 1.1 siempre que se vaya a realizar una transfusión empleando esta raza como donante. El riesgo potencial de sensibilizar a un receptor al transfundir sangre no tipificada de un Galgo Español se estima en un 22,9%, mientras que el riesgo potencial de sufrir una reacción hemolítica aguda al recibir una segunda transfusión de sangre no tipificada de Galgo Español sería del 11,8% (Mesa-Sánchez y col. 2014).

Los Galgos Españoles, de manera similar a otros lebreles, tienen un mayor Htc, mayor concentración de Hb, mayor RBC, mayor afinidad de la Hb por el oxígeno



(inferior P50 de la Hb) y menor recuento plaquetario en comparación con otras razas (Zaldívar-López y col. 2011, Mesa-Sánchez y col. 2012). El mayor Htc, la mayor concentración de Hb y el mayor RBC presentes en el Galgo Español podrían proporcionar un transporte de oxígeno más eficiente en el receptor cuando se transfunden eritrocitos en comparación con el empleo de donantes de otras razas. Además, la mayor capacidad de transporte de oxígeno en la sangre de Galgo Español podría suponer una ventaja al transfundir eritrocitos a perros con enfermedad cardíaca, con enfermedad renal, pediátricos, hipertensos o con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, que son menos tolerantes a un aumento del volumen intravascular y tienen mayor riesgo de desarrollar una sobrecarga de volumen (de Laforcade y Rozanski 2001, Kerl y Hohenhaus 1993). Por el contrario, la mayor masa eritroide presente en Galgos Españoles con respecto a otras razas podría disminuir la rentabilidad del procesado de sangre entera para obtener plasma fresco congelado, ya que usando esta raza como donante se obtendrá un menor volumen de plasma.

La mayor afinidad de la Hb por el oxígeno en el Galgo Español también podría tener influencia en la eficacia de la transfusión sobre el receptor. La mayor afinidad de la Hb por el oxígeno podría tener un efecto perjudicial en la liberación inmediata de oxígeno a nivel arteriolar en pacientes críticos, al permanecer el oxígeno unido a la Hb. Sin embargo, se ha propuesto que esta mayor afinidad de la Hb por el oxígeno podría tener un efecto beneficioso a nivel tisular más profundo al evitar la vasoconstricción capilar periférica asociada a hipoxia, y al favorecer por tanto una mejor perfusión en estos niveles donde la tensión de oxígeno es menor (Zaldivar-López y col. 2011b, Winslow 2005, Dimio y Palmer 2007). El efecto real de la mayor afinidad de la Hb por el oxígeno en la eficacia de la transfusión aun está por determinar.

El menor recuento plaquetario mostrado en Galgos Españoles con respecto a otras razas también podría tener consecuencias en la transfusión. En medicina humana, antes del uso de leucorreductores, un importante número de reacciones transfusionales estaban asociadas a la presencia de leucocitos y plaquetas del donante en la unidad de transfusión (Brubaker 1990, Aye y col. 1995). Esto sucede porque durante el almacenamiento de los hemoderivados, los leucocitos y las plaquetas

liberan elastasa, fosfolipasa, prostaglandinas y citoquinas tales como IL-1, IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral, que tienen un importante efecto protrombótico y proinflamatorio (Domen y Hoeltge 2003). Además, la reacción inmunomediada del receptor frente a los antígenos presentes en las glicoproteínas de membrana de las plaquetas del donante puede ocasionar reacciones transfusionales graves como reacción febril no hemolítica, enfermedad tromboembólica o trombocitopenia refractaria por destrucción inmune de las plaquetas transfundidas y de las propias del receptor (Slichter y col. 2005). Por lo tanto, un menor recuento plaquetario en el Galgo Español podría estar asociado a un menor riesgo potencial de reacciones adversas asociadas a la presencia de las plaquetas. La incidencia real de reacciones transfusionales empleando Galgos Españoles como donantes aun está por determinar. Por otro lado, el menor recuento plaquetario presente en el Galgo Español podría disminuir el número final de plaquetas transfundidas a receptores con problemas de hemostasia primaria cuando se transfunde sangre fresca entera o concentrado de plaquetas usando esta raza como donante.

Como consecuencia de la centrifugación y procesado de la sangre entera para obtener los diferentes hemoderivados puede aumentar la concentración de Hb libre presente en una unidad de transfusión (Ferreira y col. 2013). La liberación de Hb libre a la circulación sanguínea del receptor durante la transfusión podría incrementar la morbilidad y mortalidad, debido a su efecto vasoactivo, hipertensor, oxidativo y proinflamatorio. Un artículo reciente demostró que el incremento de la concentración de haptoglobina en perros tiene la capacidad de incrementar los complejos hemoglobina-haptoglobina, y por tanto, limitar la toxicidad de Hb libre, disminuir la hipertensión y reducir el daño oxidativo sobre tejidos extravasculares como el túbulo renal proximal (Boretti y col. 2009). Además, Boretti y col. (2009) concluyeron en su estudio que el suplemento con haptoglobina como quelante de la Hb podría ser eficaz en el tratamiento de complicaciones asociadas a la presencia de Hb libre. Por tanto, la mayor concentración de haptoglobina presente en Galgos Españoles en comparación con Greyhounds y otras razas (Zaldívar-López y col. 2012) podría tener un efecto beneficioso al formar más complejos con la Hb libre presente en los hemoderivados

sanguíneos y disminuir el riesgo potencial de ésta sobre el receptor. Son necesarios más estudios para evaluar el efecto real sobre el receptor que tiene la mayor concentración de haptoglobina cuando se usa el Galgo Español como donante.

Aunque algunas de las particularidades hematológicas del Galgo Español podrían tener repercusión en el proceso de transfusión, hasta la fecha no existen estudios que permitan determinar la seguridad de realizar extracciones repetidas en el Galgo Español y evaluar la eficacia de la transfusión en el receptor empleando donantes de esta raza, lo cual abre un amplio campo de investigación. Algunos estudios que podrían resultar interesantes realizar en el Galgo Español a partir de los datos obtenidos en el presente trabajo podrían ser: valorar los efectos hemodinámicos que tiene la extracción de una unidad de sangre, estudiar el efecto de extracciones repetidas en los parámetros hemáticos, estudiar la concentración de Hb libre, haptoglobina y porcentaje de hemólisis presente en unidades de sangre obtenidas, evaluar la concentración de factores de coagulación en plasma fresco congelado, y evaluar la eficacia de la transfusión de hemoderivados en el receptor empleando esta raza como donante.

## **CAPÍTULO V – CONCLUSIONES**

El Galgo Español presenta particularidades clinicopatológicas específicas de raza que los veterinarios deben conocer para evitar interpretaciones inadecuadas del examen laboratorial y errores en el proceso diagnóstico:

1. El Galgo Español presenta particularidades específicas en sus valores de hemograma comparado con otras razas. Al igual que casi todos los lebreles, presenta mayor hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos, y menor recuento de plaquetas que los perros de otras razas. El Galgo Español presenta mayor pH en el análisis de gases sanguíneos y equilibrio ácido-base, y no presenta diferencias significativas en el análisis de electrolitos con respecto a otras razas.
2. La prevalencia del Antígeno Eritrocitario Canino 1.1 en Galgos Españoles es similar a la prevalencia presente en la población canina general.
3. En bioquímica sérica, los Galgos Españoles muestran mayor concentración de creatina quinasa, y menor concentración de colesterol y glucosa que otras razas.
4. En la electroforesis de proteínas séricas, el Galgo Español presenta mayor concentración de albúmina y  $\beta$ -globulinas, y menor concentración de globulinas totales,  $\alpha_2$ -globulinas y  $\gamma$ -globulinas que otras razas.
5. El Galgo Español presenta una concentración de haptoglobina ligeramente superior que la presente en otras razas, al contrario que los Greyhounds que presentan una concentración de haptoglobina prácticamente indetectable.
6. Las particularidades descritas en el hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento total de eritrocitos, recuento plaquetario, prevalencia de DEA 1.1 y concentración de haptoglobina en el Galgo Español podrían tener

importantes implicaciones en la selección de dicha raza como donante de sangre.

## **CAPÍTULO VI – BIBLIOGRAFÍA**

1. Andrews GA. (2006) Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5 th ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins. 767–737.
2. Aye MT, Palmer DS, Giulivi A, Hashemi S (1995) Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet release factors during storage. *Transfusion* 35, 117–124
3. Bain B, Seed M, Godsland I. (1984) Normal values for peripheral blood white cell counts in women of four different ethnic origins. *J Clin Pathol* 37, 188–193.
4. Bain BJ. (1996) Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. *J Clin Pathol* 49,664–666.
5. Barnes JI. (1994) *The complete book of Greyhounds*. New York, NY:Howell Book House. 18-27
6. Barrett, K. (1998) *Living with Deerhounds*.  
<http://www.deerhound.co.uk/breedstandard/history.htm>. Accessed September 2012
7. Beale KM, Bloomberg MS, Gilder JV, Wolfson BB, Keisling K. (1992) Correlation of racing and reproductive performance in greyhounds with response to thyroid function testing. *J Am Anim Hosp Assoc* 28, 263–269.
8. Bertazzolo W, Comazzi S, Sesso L, Scarpa P, Ru G. (2007) Comparison of methods for determining platelet numbers and volume in Cavalier King Charles spaniels. *J Small Anim Pract* 48, 556–561.
9. Bhatt VS, Zaldívar-López S, Harris DR, Couto CG, Wang PG, Palmer AF (2011) Structure of Greyhound hemoglobin: origin of high oxygen affinity. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 67, 395-402.
10. Blais M-C, Berman L, Oakley DA, Giger U (2007) Canine dal blood type: a red cell antigen lacking in some Dalmatians. *J Vet Intern Med* 21, 281–286.
11. Blais M-C, Rozanski EA, Hale AS, Shaw SP, Cotter SM. (2009) Lack of evidence of pregnancy-induced alloantibodies in dogs. *J Vet Intern Med* 23, 462–465.



12. Bodey AR, Rampling MW. (1998) A comparative study of the haemorheology of various breeds of dog. *Clin Hemorheol Microcirc* 18, 291–298.
13. Boretti FS, Buehler PW, D'Agnillo F, Kluge K, Glaus T, Butt OI, Jia Y, Goede J, Pereira CP, Maggiorini M, Schoedon G, Alayash AI, Schaer DJ. (2009) Sequestration of extracellular hemoglobin within a haptoglobin complex decreases its hypertensive and oxidative effects in dogs and guinea pigs. *J Clin Invest* 119(8), 2271-80.
14. Bourgès-Abella N, Geffré A, Concordet D, Braun JP, Trumel C. (2011) Canine reference intervals for the Sysmex XT-2000iV hematology analyzer. *Vet Clin Pathol* 40, 303-315.
15. Bright JM, Dentino M. (2002) Indirect arterial blood pressure measurement in nonsedated Irish Wolfhounds: reference values for the breed. *J Am Anim Hosp Assoc* 38(6), 521-326.
16. Brubaker DB (1990) Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion* 30;733–737.
17. Callan MB, Jones LT, Giger U. (1995) Hemolytic transfusion reactions in a dog with an alloantibody to a common antigen. *J Vet Intern Med* 9, 277–279.
18. Campora C, Freeman KP, Lewis FI, Gibson G, Sacchini F, Sánchez-Vazquez MJ. (2011) Determination of haematological reference intervals in healthy adult greyhounds. *J Small Anim Pract* 52, 301–309.
19. Caro JT, Marín LM, Iazbik MC, Zaldívar-López S, Borghese H, Couto CG. (2013) Markers of iron metabolism in retired racing Greyhounds with and without osteosarcoma. *Vet Clin Pathol* 42, 360-363.
20. Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S. (2005) Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 34, 85-99
21. Clark P, Parry BW (2008) Some haematological values of Irish wolfhounds in Australia. *Aust Vet J* 75, 523-524.
22. Clemente M, Marin L, Iazbik MC, Couto CG. (2010) Serum concentrations of IgG, IgA, and IgM in retired racing Greyhound dogs. *Vet Clin Pathol* 39, 436–439.

23. CLSI C28-A3. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. (2008) 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 1–61.9
24. Club nacional del Galgo Español. <http://www.galgoes.com/>. Accessed February 2015
25. Coile C (1998). Whippets: A complete pet owner's manual. Hauppauge, N.Y: Barron's. p. 7
26. Concordet D, Vergez F, Trumel C, Diquélou A, Lanore D, Le Garrères A, Pagès JP, Péchereau D, Médaille C, Braun JP. (2008) A multicentric retrospective study of serum/plasma urea and creatinine concentrations in dogs using univariate and multivariate decision ruled to evaluate diagnostic efficacy. *Vet Clin Pathol* 37, 96–103.
27. Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J, Douglas TA (1988) Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res Vet Scien*45, 107–110.
28. Couto CG, Ceron JJ, Parra MD, Martinez-Subiela S, Iazbik MC. (2009) Acute phase protein concentrations in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 38, 219–223.
29. Couto CG, Lara A, Iazbik MC, Brooks MB. (2006) Evaluation of platelet aggregation using a point-of-care instrument in retired racing Greyhounds. *J Vet Intern Med* 20,365–370.
30. Cowan L, Refsal K, Nachreiner R, Schoning P. (1997) Thyroidhormone and testosterone concentrations in racing Greyhounds with and without bald thigh syndrome. *J Vet Intern Med* 11, 142.
31. Cox RH, Peterson LH, Detweiler DK. (1976) Comparison of arterial hemodynamics in the mongrel dog and the racing greyhound. *Am J Physiol* 230, 211-218.
32. Cramer MB, Turbyfill CL, Dewes WA. (1969) Serum chemistry values for the Beagle. *Am J Vet Res* 30, 1183–1186.

33. Damjan Gračner y col. (2007) Blood groups and haematology in Istrian pointers. *Vet Arhiv* 77, 95-102.
34. Dibartola SP. (2000) Fluid Therapy in Small Animal Practice. 2nd ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders,
35. Dimio M.L., Palmer A.F.(2007) Hemoglobin-based O<sub>2</sub> carrier O<sub>2</sub> affinity and capillary inlet pO<sub>2</sub> are important factor that influence O<sub>2</sub> trasnport in a capillary. *Biotechnol Prog* 23,921-931.
36. Dodds WJ. (1994) Greyhounds blood donors. *J Am vet Med Assoc* 205, 402-404.
37. Domen RE, Hoeltge GA (2003) Allergic transfusion reactions. *Arch Pathol Lab Med*127, 316–320.
38. Drost WT, Couto CG, Fischetti AJ, Mattoon JS, Iazbik C. (2006) Comparison of glomerular filtration rate between greyhounds and non-Greyhound dogs. *J Vet Intern Med* 20,544–546.
39. Dunlop MM, Sánchez-Vazquez MJ, Freeman KP, Gibson G, Sacchini F, Lewis F. (2011) Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. *J Small Anim Pract* 52, 4–10.
40. Eckersall, P.D. (2008) Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th edn. Eds J.J. Kaneko, J.W. Harvey, M.L. Bruss. San Diego, CA: Academic Press Inc. pp 117–156
41. Egan PSAJ. (1978) Evaluation of S-Gpt and S-Ap Levels in normal Greyhound. *Ir Vet J* 35, 89–96.
42. Ergul Ekiz E, Arslan M, Ozcan M, Gultekin GI, Gulay OY, Kirmizibayrak T, Giger U. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 in 4 breeds native to different areas in Turkey. *Vet Clin Pathol* 40(4),518-23.
43. Fabrizio F, Baumwart R, Iazbik MC, Meurs KM, Couto CG. (2006) Left basilar systolic murmur in retired racing greyhounds. *J Vet Intern Med* 20, 78–82.

- 
44. Fanjul S. (2012) “La tragedia del Galgo Español” El país. [www.http://sociedad.elpais.com/sociedad/2012/07/05/actualidad/1341511340\\_900436.html](http://sociedad.elpais.com/sociedad/2012/07/05/actualidad/1341511340_900436.html). Accessed February 2015
45. Fayos M, Couto CG, Iazbik MC, Wellman ML. (2005) Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 34,397–400.
46. Fédération Cynologique Internationale (2011) <http://www.fci.be/>. Accessed February 2015.
47. Feeman WE, Couto CG, Gray TL. (2003) Serum creatinine concentrations in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 32, 40–42.
48. Ferreira R, Gopegui RR, Matos A. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 expression in dogs from Portugal. *Vet Clin Pathol* 40, 198–201.
49. Ferreira RR, Gopegui RR, Maia S, Matos AJ (2013) Laboratory analysis of canine packed red blood cells – effects of collection and processing on haemolysis, haemoglobin concentration, haematocrit and blood culture. *Com Clinical Pathol* 23, 1395-1401.
50. Finco DR.(1997) Kidney function In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. San Diego, Calif: Academic Press. 441-484.
51. Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF, Blanco-Chavez J; American Society for Veterinary Clinical Pathology. (2012) ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol* 41(4), 441-53.
52. Fundación Affinity (2014). Estudio sobre Abandono y Adopción 2013. [www.fundacion-affinity.org](http://www.fundacion-affinity.org). Accessed February 2015.
53. Garon CL, Cohn LA, Scott MA (2010). Erythrocyte survival time in Greyhounds as assessed by use of in vivo biotinylation. *Am J Vet Res* 71, 1033-1037.
54. Gaughan KR, Bruyette DS. (2001) Thyroid function testing in Greyhounds. *Am J Vet Res* 62, 1130–1133.

55. Geffen Cv, Bavegems V, Duchateau L, Roover KD, Daminet S. (2006) Serum thyroid hormone concentrations and thyroglobulin autoantibodies in trained and non-trained healthy whippets. *Vet J* 172,135–140.
56. Geffre A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP (2009) Reference intervals: a review. *Vet Clin Pathol* 38, 288-98.
57. Giger U, Gelens CJ, Callan MB, Oakley DA. (1995) An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *J Am Vet Med Assoc* 206, 1358–1362.
58. Giger U, Stieger K, Palos H. (2005) Comparison of various canine blood-typing methods. *Am J Vet Res* 68, 1386-1392.
59. Giori L, Gironi S, Scarpa P. (2011) Grey eosinophils in sighthounds: frequency in 3 breeds and comparison of eosinophil counts determined manually and with 2 hematology analyzers. *Vet Clinical Pathol* 40, 475-483.
60. Gookin JL, Bunch SE, Rush LJ, Grindem CB. (1998) Evaluation of microcytosis in 18 Shibas. *J Am Vet Med Assoc* 212,1258–1259.
61. Gommeren K, Duchateau L, Paepe D, Vanholen L, Vandenberghe A. (2006) Investigation of physiologic leucopenia in Belgian Tervuren dogs. *J Vet Intern Med* 20,1340–1343.
62. Gonzalez Fernandez FA, Villegas A, Ropero P, et al. (2009) Haemoglobinopathies with high oxygen affinity. Experience of Erythropathology Cooperative Spanish Group. *Ann Hematol* 88, 235–238.
63. Gracner D, Bedrica L, Labura C, Maticic D, Gracner G, Samardzija M. (2007) Blood groups and haematology in Istrian pointers. *Veterinarski Arhiv* 77, 95–102.
64. Haldane S, Roberts J, Marks SL, Raffe MR (2004) Transfusion medicine. *Compend Contin Educ Pract Vet* 26, 502–518.
65. Hale AS, Werfelmann J. (2006) Incidence of canine serum antibody to known dog erythrocyte antigens in potential donor population [abstract]. *J Vet Intern Med* 20, 768.

- 
66. Hale AS. (1995) Canine blood groups and their importance in Veterinary Medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 25, 1323-1332.
67. Hale AS, Werfelmann J, Lemmons M, Smiler B, Gerlach J. (2008) An evaluation of 9570 dogs by breed and dog erythrocyte antigen typing. *J Vet Intern Med* 22, 740.
68. Harris EK, Boyd JC. (1990) On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem* 36, 265–270.
69. Harper EJ, Hackett RM, Wilkinson J, Heaton PR. (2003) Age related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *J Am Vet Med Assoc* 223, 1436–1442.
70. Heinrich P C, Castell J V, Andus T (1990) Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 265, 621- 636.
71. Heneghan T. (1977) Haematological and biochemical variables in the greyhound. *Vet Res Communicat* 1, 277-284.
72. Hill RC, Fox LE, Lewis DD, Beale KM, Nachreiner RF, Scott KC, Sundstrom DA, Jones GL, Butterwick RF. (2001) Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing Greyhounds. *Am J Vet Res* 62, 1969–1972.
73. Hilppo M. (1986) Some haematological and clinical-chemical parameters of sight hounds (Afghan hound, Saluki and Whippet). *Nord Vet Med* 38,148–155.
74. Hoareau GL, Jourdan G, Mellema M, Verwaerde P. (2012) Evaluation of arterial blood gases and arterial blood pressures in brachycephalic dogs. *J Vet Intern Med* 26, 897-904.
75. Hohenhaus AE. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals (2004) *Transf Med Rev*18, 117–126.
76. Hole F, Wyllie C. (2007) The oldest depictions of canines and possible early breed of dog in Iran. *Paléorient* 33, 175–185.
77. Horn PS, Pesce AJ (2002). Effect of ethnicity on reference intervals. *Clin Chem* 48, 1802–1804.

78. Hughes D. (2003) Transfusion Medicine. Royal Veterinary College, London, UK. World Small Animal Veterinary Association World Congress
79. Iazbik MC, Couto CG. (2005) Morphologic characterization of specific granules in Greyhound eosinophils. *Vet Clin Pathol* 34, 140-143.
80. Iazbik MC, O'Donnell M, Marin L, Zaldivar S, Hudson D, Couto CG. (2010) Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 39(4),433-435.
81. Ilkiw JE, Davis PE & Church DB. (1989) Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *Am J Vet Res* 50, 583-586.
82. Jensen AL, Wenck A, Koch J, Poulsen JS. (1994) Comparison of results of haematological and clinical chemical analyses of blood samples obtained from the cephalic and external jugular veins in dogs. *Res Vet Sci* 56, 24–29
83. Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. (2006) Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. *J Natl Med Assoc* 98,398–402.
84. Kaheler S. (1994) Banking on Greyhounds. *J Am vet med Assoc* 204, 1295-1297.
85. Karita E, Ketter N, Price MA, Kayitenkore K, Kaleebu P, Nanvubya A, Anzala O, Jaoko W, Mutua G, Ruzagira E, Mulenga J, Sanders EJ, Mwangome M, Allen S, Bwanika A, Bahemuka U, Awuondo K, Omosa G, Farah B, Amornkul P, Birungi J, Yates S, Stoll-Johnson L, Gilmour J, Stevens G, Shutes E, Manigart O, Hughes P, Dally L, Scott J, Stevens W, Fast P, Kamali A. (2009) CLSI-derived hematology and biochemistry reference intervals for healthy adults in eastern and southern Africa. *PLoS One*. 4, e4401.
86. Kerl ME, Hohenhaus AE (1993) Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases. *J Am Vet Med Assoc* 202, 1495-1499.
87. Kessler RJ, Reese J, Chang D, Seth M, Hale AS, Giger U. (2010) Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. *Vet Clin Pathol* 39, 306–316.

- 
88. Kohn B, Classe G, Weingart C. (2012) Clinical evaluation of the QuickVet/RapidVet canine dog erythrocyte antigen 1.1 blood-typing test. *J Vet Diagn Invest* 24 (3), 539–545.
89. Komárek J, Jadrný L, Sýkora I. (1975) Values of acido-basic balance in the blood of the beagle breed dog in comparison with the German shepherd dog. *Vet Med (Praha)* 20, 57-63.
90. Laforcade AM, Rozanski EA. (2001) Central venous pressure and arterial blood pressure measurements. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31(6), 1163-1174.
91. Lara-Garcia A, Couto CG, Iazbik MC, Brooks MB. (2008) Postoperative bleeding in retired racing greyhounds. *J Vet Intern Med* 22, 525–533.
92. Lassen ED, Craig AM, Blythe LL. (1986) Effect of racing on hematologic and serum biochemical values in Greyhounds. *J Am vet Med Assoc* 188,1299-1303.
93. LaVecchio D, Marin LM, Baumwart R, Iazbik MC, Westendorf N, Couto CG. (2009) Serum cardiac troponin I concentration in retired racing greyhounds. *J Vet Intern Med* 23, 87–90.
94. Lavoué R, Geffré A, Braun JP, Peeters D, Granat F, Bourgès-Abella N, Trumel C. (2014) Breed-specific hematologic reference intervals in healthy adult Dogues de Bordeaux. *Vet Clin Pathol* 43, 352-361.
95. Lavoué R, Geffré A, Braun JP, Peeters D, Trumel C. (2013) Breed-specific biochemical reference intervals for the adult Dogue de Bordeaux. *Vet Clin Pathol* 42, 346–359.
96. Lefebvre (2011) Greyhound-specific reference intervals: a good start to a long race. *Vet Clin Pathol* 40(4), 405–406.
97. Lim SK, Kim H, Lim SK, bin Ali A, Lim YK, Wang Y, Chong SM, Costantini F, Bauman H. (1998) Increased susceptibility in Hp knockout mice during acute hemolysis. *Blood* 92, 1870–1877.
98. Lilliehook I, Tvedten H. (2003) Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33,1359–1378.



99. Lund C, Kuhl S, Mischke R, Gunzel-Apel AR. (2000) Reference values of the red blood profile in beagle, German shepherd and golden retriever puppies. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 113, 447–453.
100. Martinez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, Ceron JJ (2002). Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record* 150, 241–244.
101. McGreevy, Paul; Grassia, Tanya D.; Harman, Alison M. (2004). A strong correlation exists between the distribution of retinal ganglion cells and nose length in the dog. *Brain Behav Evol* 63 (1), 13–22
102. Melzer KJ, Wardrop KJ, Hale AS, Wong VM. (2003) A hemolytic transfusion reaction due to DEA 4 alloantibodies in a dog. *J Vet Intern Med* 17, 931–933.
103. Mesa-Sánchez I, Ruiz de Gopegui-Fernández R, Granados-Machuca MM, Galán-Rodríguez A. (2014) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in galgos (Spanish greyhounds). *Vet Rec* 5, 174-77.
104. Mesa-Sánchez I, Zaldívar-López S, Couto CG, Gamito-Gómez A, Granados-Machuca MM, Lopez-Villalba I, Galán-Rodríguez A. (2012) Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *J Small Anim Pract* 53(7), 398-403.
105. Nachreiner RJ, Refsal KR. (1992) Thyroid hormonal concentrations in Irish Wolfhounds. *Harp and Hound* 2, 15–26.
106. Nestor DD, Holan KM, Johnson CA, Schall W, Kaneene JB. (2006) Serum alkaline phosphatase activity in Scottish Terriers versus dogs of other breeds. *J Am Vet Med Assoc* 228, 222–224.
107. Neuhaus D, Fedde MR, Gaehtgens P. (1992) Changes in haematology in the racing Greyhound as related to oxygen delivery. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 65, 278-285.

108. Nielsen L, Kjølgaard-Hansen M, Lundorff Jensen A, Kristensen AT. (2009) Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Vet Clin Pathol* 39, 20–28.
109. Nold JL, Peterson LJ, Fedde MR. (1991) Physiological changes in the running greyhound (*Canis domesticus*): influence of racelength. *Comp Biochem Physiol. A, Comp Physiol* 100, 623-627.
110. Nottidge HO, Omobowale TO, Washio M, Ajadi RA, Toizumi SH, Takahashi K (2006) The prevalence of the dog erythrocyte antigen 1 (DEA 1.1 and 1.2) in Nigerian indigenous dogs. *Folia Vet* 50, 66–68.
111. Novais AA, Santana A, Vicentin LA.(1999) Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 36, 23–27.
112. Novinger MS, Sullivan PS, McDonal TP. (1996) Determination of the lifespan of erythrocytes from Greyhounds using an in vitro biotinylation technique. *Am J Vet Res* 57,739-742.
113. Panakova L, Koch H, Kolb S, Mueller RS (2008) Thyroid testing in Sloughis. *J Vet Intern Med* 22, 1144-1148.
114. Panciera DL, Hinchcliff KW, Olson J, Constable PD. (2003) Plasma thyroid hormone concentrations in dogs competing in a long-distance sled dog race. *J Vet Intern Med* 17, 593–596.
115. Pape LA, Price JM, Alpert JS, Rippe JM. (1986) Hemodynamics and left ventricular function: a comparison between adult racing greyhounds and greyhounds completely untrained from birth. *Basic Res Cardiol* 81, 417–424.
116. Parker HG, Kim LV, Sutter NB, Carlson S, Lorentzen TD, Malek TB, Johnson GS, DeFrance HB, Ostrander EA, Kruglyak L (2004) Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science* 304, 1160– 1164.
117. Parker HG, Kukekova AV, Akey, DT, Goldstein O, Kirkness EF, Baysac KC, Mosher DS, Aguirre GD, Acland GM, Ostrander EA. (2007) Breed relationships facilitate

fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Res* 17, 1562-1571.

118. Pedersen HD, Häggstrom J, Olsen LH, Christensen K, Selin A, Burmeister ML, Larsen H. (2002) Idiopathic asymptomatic thrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels is an autosomal recessive trait. *J Vet Intern Med* 16, 169–173.

119. Phillips SL, Polzin DJ (1998) Clinical disorders of potassium homeostasis. In Advances in fluid and electrolyte disorders. *Vet Clin North Am* 28(3), 545-563.

120. Pinilla M, Shiel RE, Brennan SF, McAllister H, Mooney CT. (2009) Quantitative thyroid scintigraphy in greyhounds suspected of primary hypothyroidism. *Vet Radiol Ultrasound* 50, 224–229.

121. Porter JA, Canaday WR. (1971) Hematologic values in mongrel and greyhound dogs being screened for research use. *J Am Vet Med Assoc* 159,1603–1606.

122. Ramaiah SK, Seguin MA, Carwile HF, Raskin RE. (2002) Biclonal gammopathy associated with immunoglobulin A in a dog with multiple myeloma. *Vet Clin Pathol* 31, 83–89.

123. Rautenbach GH, Joubert HF. (1988) A comparison of health parameters in two different canine populations. Part II: chemical pathology data. *J S Afr Vet Assoc* 59, 135–138.

124. Rautenbach GH, Booth C, Hohn EW. (1978) A comparison of health parameters in two different canine populations. Part 1: haematological data. *J S Afr Vet Assoc* 58, 179–182.

125. Riond B, Schuler E, Rogg E, Hofmann-Lehmann R, Lutz H. (2011) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in dogs in Switzerland evaluated with the gel column technique. *Schweiz Arch Tierheilkd* 53(8),369-74.

126. Rogers WA, Donovan EF, Kociba GJ. (1975) Idiopathic hyperlipoproteinemia in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 166, 1087–1091.

- 
127. Rose RJ y Bloomberg MS. (1989) Responses to sprint exercise in the Greyhound: effects on haematology, serum biochemistry and muscle metabolites. *Res Vet Scien* 47, 212-218.
128. Salas Melero (1995) "Galgo Español: La difícil supervivencia de un corredor de fondo". *La revista del perro*, Octubre 1995.
129. Santoro SK, Garrett LD, Wilkerson M. (2007) Platelet concentrations and platelet-associated IgG in Greyhounds. *J Vet Intern Med* 21, 107–112.
130. Sato K, Agoh H, Kaneshige T, Hikasa Y, Kagota K. (2000) Hypercholesterolemia in Shetland sheepdogs. *J Vet Med Sci* 62(12), 1297-301.
131. Semenza GL. (2009) Involvement of oxygen-sensing pathways in physiologic and pathologic erythropoiesis. *Blood* 114, 2015–2019.
132. Seth M, Jackson KV, Winzelberg S, Giger U. (2012) Comparison of gel column, card, and cartridge techniques for dog erythrocyte antigen 1.1 blood typing. *Am J Vet Res*. 73; 213–219.
133. Sheerer KN, Couto CG, Marin LM, Zaldívar-López S, Iazbik MC, Dillberger JE, Frye M, Denicola DB. (2013) Haematological and biochemical values in North American Scottish Deerhounds. *J Small Anim Pract* 54(7), 354-60.
134. Singh MK, Lamb WA. (2005) Idiopathic thrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *Aust Vet J* 83, 700–703.
135. Sharkey L, Gjevne K, Hegstad-Davies R, Torres S, Muñoz-Zanzi C. (2009) Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Vet Clin Pathol* 38, 375 – 380.
136. Shiel RE, Sist M, Nachreiner RF, Ehrlich CP, Mooney CT (2010) Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *J Am Vet Med Assoc* 236, 302-308.

137. Shiel RE, Breenan SF, O'Rourke LG, McCullough M, Mooney CT (2007a) Hematologic values in young pretraining healthy Greyhounds. *Vet Clin Pathol* 36,274-277.
138. Shiel RE, Brennan SF, Omodo-Eluk AJ, Mooney CT. (2007b) Thyroid hormone concentrations in young, healthy, pretraining greyhounds. *Vet Rec* 161, 616–619.
139. Smedile LE, Houston DM, Taylor SM, Searcy GP. (1997) Idiopathic, asymptomatic thrombocytopenia in Cavalier King Charles spaniels: 11 cases (1983–1993). *J Am Anim Hosp Assoc* 33, 411–415.
140. Snow DH, Harris RC, Stuttard E. (1988) Changes in haematology and plasma biochemistry during maximal exercise in Greyhounds. *Vet Rec* 123, 487-489.
141. Snyder PS, Sato T, Atkins CE. (1995) A comparison of echocardiographic indices of the nonracing healthy greyhound to reference values from other breeds. *Vet Radiol Ultrasound* 36, 387–392.
142. Solter PF, Hoffmann WE, Hungerford LL, Siegel JP, St Denis SH, Dorner JL. (1991) Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am J Vet Res* 52, 1738–1742.
143. Sothorn RB, Farber MS, Gruber SA. (1993) Circannual variations in baseline blood values of dogs. *ChronobiolInt* 10, 364–382.
144. Steiss JE, Brewer WG, Welles E, Wright JC. (2000) Hematologic and serum biochemical reference values in retired greyhounds. *Compend Cont Educ Vet Pract* 22,243–248.
145. Stockham SL, Scott MA (2008) In: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd Edn. Eds S.L. Stockham, M.A. Scott. USA: Blackwell Publishing, Ames, IA, USA.
146. Sullivan PS, Evans HL, McDonald TP. (1994) Platelet concentration and hemoglobin function in Greyhounds. *J Am Vet Med Assoc* 205, 838–841.
147. Takami M J (1993) Catabolism of heme moiety of hemoglobin-haptoglobin in rat liver cells in vivo. *J Biolog Chemis* 268, 20335-20342.

148. Thougard AV, Hellmen E, Pedersen HD, Jensen AL. (1999) Correlation between alpha 1-acid glycoprotein and total sialic acid in serum from dogs with tumours. *J Vet Med* 46, 231–237.
149. Thrall MA. (2012) Erythrocyte Morphology en: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. 2<sup>ed</sup>. Thrall MA, Weiser G, Allison RW. Campbell TW eds. Willey-Blackwell. Oxford.
150. Tocci LJ, Ewing PJ. (2009) Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. *J Vet Emerg Crit Care* 19, 66–73.
151. Tosa N, Morimatsu M, Nakagawa M, Miyoshi F, Uchida E, Niiyama M, Syuto B, Saito M, (1993) Purification and identification of a serum protein increased by anthelmintic drugs for *Dirofilaria immitis* in dogs. *J Vet Med Scien* 55, 27–31.
152. Uhrikova I., Lacnakovab A., Tandlerova K., Kucharova V., Rehacova K., Janova E, Doubek J. (2013) Hematological and biochemical variations among different sighthound breeds. *Australian Vet J* 91, 452–459.
153. Van Der Merwe LL, Jacobson LS, Pretorius GJ. (2002) The breed prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in the Onderstepoort area of South Africa and its significance in selection of canine blood donors. *J S Afr Vet Assoc* 73, 53–56.
154. VandegriffK D, Winslow RM. (2009) Hemospasm: design principles for a new class of oxygen therapeutic. *Artif Organs* 33, 133-138.
155. Vilar P, Couto CG, Westendorf N, Iazbik C, Charske J, Marin L. (2008) Thromboelastographic tracings in retired racing greyhounds and in non-greyhound dogs. *J Vet Intern Med* 22, 374–379.
156. Walton JE, Hale AS, Brooks MB, Boag AK, Barnett W, Dean R. (2014) Coagulation factor and hemostatic protein content of canine plasma after storage of whole blood at ambient temperature. *J Vet Intern Med* 28, 571–575.
157. Watson P, Simpson KW, Bedford PG (1993) Hypercholesterolaemia in briards in the United Kingdom. *Res Vet Sci* 54(1), 80-85.

158. Weiser A. (2012) Introduction to Leukocytes and Leukogram, en: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. 2ªed. Thrall MA, Weiser G, Allison RW. Campbell TW eds. Willey-Blackwell. Oxford.
159. Wimberley PD, Burnett RW, Covington AK, et al. (1991) Guidelines for routine measurement of blood hemoglobin oxygen affinity. IFCC Scientific Division, Committee on pH, Blood Gases, and Electrolytes. *J Int Fed Clin Chem* 3, 81–86.
160. Winslow RM (2005) Targeted O<sub>2</sub> delivery by low-p50 hemoglobin: a new basis for hemoglobin-based oxygen carriers. *Artif Cells Blood Subst Immobil Biotech* 33, 1-12.
161. Wong VM, Kidney BA, Snead EC, Myers SL, Jackson ML. (2011) Serum C-reactive protein concentrations in healthy Miniature Schnauzer dogs. *Vet Clin Pathol* 40 :380-3.
162. Zaldívar-López S, Marín L.M., Iazbik M.C., Westendorf-Single N., Hensley S., Couto C.G. (2011a) Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Vet Clin Pathol* 40, 414-425.
163. Zaldívar-López S, Mesa-Sánchez I, Galán-Rodríguez A, Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Granados-Machuca MM, Couto GC (2012). Haptoglobin concentration in galgos and greyhounds. *Vet Rec* 12, 170.
164. Zaldívar-López S, Chisnell HK, Couto CG, Westendorf-Stingle N, Marín L, Iazbik MC, Cooper ES, Wellman ML, Muir WW. (2011b) Blood gas analysis and cooximetry in retired-racing greyhounds. *J Vet Emerg & Crit Care* 21, 24-28.
165. Zaldívar-López S., Ruano-Barneda R., Couto CG. (2011c) Blood gas analysis in a Spanish sighthound breed (Galgo Español). *Vet Rec* 168, 486.
166. Zaldívar-López S, Westendorf-Stingle N, Iazbik M, Cooper E, Couto C. Chemistry panel and acid-base, values in retired racing greyhounds using a critical care analyzer, Proceedings of the ACVIM Forum, Anaheim, CA, 2010;660–795.
167. Zimmerman K, Panciera D, Panciera R. (2007) Hyperalkalinephosphatemia in Scottish Terriers caused by atypical adrenal cortical disease [abstract]. *Vet Clin Pathol* 36, 312.

168. Zubcic D, Bedrica L, Gracner D, Harapin I, Fury M, Jeremic J (2008). Blood groups, haematology and clinicochemical indicators in indigenous breeds of dog. I. Croatian sheepdog. *Vet Arhiv* 78, 141–147.





**PRODUCCIÓN CIENTÍFICA Y  
TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO  
DERIVADO DE ESTA TESIS DOCTORAL**

Como se detalla a continuación, el desarrollo de esta Tesis Doctoral ha dado lugar, de forma directa o indirecta, a una serie de trabajos científicos, publicados en revistas indexadas en el Journal Citation Report (JCR) y en revistas nacionales, libros y capítulos de libros, comunicaciones a congresos nacionales e internacionales, conferencias en cursos, convenios de colaboración internacionales y la constitución de una empresa.

## **1. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA:**

### **Artículos científicos:**

- **I. Mesa-Sánchez**, S. Zaldívar-López, C. G. Couto, A. Gamito-Gómez, M. M. Granados-Machuca, I. Lopez-Villalba, A. Galán-Rodríguez (2012) Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *Journal of Small Animal Practice*; 53, 398–403.
- S. Zaldívar-López, **I. Mesa-Sánchez**, A. Galán-Rodríguez, J. J. Cerón, S. Martínez-Subiela, M. M. Granados-Machuca, C. G. Couto (2012) Haptoglobin concentration in Galgos and Greyhounds. *Veterinary Record*; 170 (19):496. doi: 10.1136/vr.100411.
- **I. Mesa-Sánchez**, A. Galán-Rodríguez, A. Gamito-Gómez, C. Martínez-Bernal, S. Zaldívar-López, MM Granados-Machuca, G Couto (2012) Transfusión sanguínea en el perro: Importancia de la selección del donante y tipificación del antígeno eritrocitario canino 1.1". *Consulta de Difusión Veterinaria*. 195, 43
- **I. Mesa-Sánchez**, R. Ruiz de Gopegui, M. M. Granados-Machuca, A. Galán-Rodríguez (2014) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in Galgos (Spanish Greyhounds). *Veterinary Record*; 174(14): 351. doi: 10.1136/vr.102087.
- **I. Mesa-Sánchez**, R. Ruiz de Gopegui, M. M. Granados-Machuca, A. Galán-Rodríguez (2014) Serum biochemical profile in Galgos. *Topics in Companion Animal Medicine* (en revisión)

- **I. Mesa-Sánchez**, R. Ruiz de Gopegui, M. M. Granados-Machuca, A. Galán-Rodríguez (2015) Serum protein electrophoresis in Galgos. Comparative Clinical Pathology (en revisión)

**Libros y capítulos de libro:**

- **Mesa Sánchez I.** y López Villalba I. (2015) “Guía práctica de interpretación analítica y diagnóstico diferencial en pequeños animales. Hematología y bioquímica”. Ed. Servet ISBN: 978-84-16315-13-0.
- **Mesa Sánchez I.** y Mengual Riera C. (2015) “Capítulo 6. Transfusión: Hemoderivados, componentes e indicaciones” en Manual Clínico del Perro y el Gato. 2ª Edición. Elsevier ISBN-13: 978-8490227435.
- **Mesa Sánchez I.** y Mengual Riera C. (2015) “Capítulo 5. Alteraciones del hemograma y de la coagulación” en Manual Clínico del Perro y el Gato. 2ª Edición. Elsevier ISBN-13: 978-8490227435.
- **Mesa Sánchez I.** y Navarrete Calvo R. (2015) “Capítulo 27. Cómo llevar a cabo un plan de urgencia” en Manual Clínico del Perro y el Gato. 2ª Edición. Elsevier ISBN-13: 978-8490227435.

**Comunicaciones a congresos:**

- **I. Mesa-Sánchez**, S. Zaldívar-López, A. Gamito-Gómez, C. G. Couto, M. M. Granados-Machuca, I. López- Villalba, A. Galán-Rodríguez (2011) Hematology, blood gas and acid-base balance in Galgos (Spanish Greyhounds). European Congress of Veterinary Internal Medicine. Sevilla, España.
- A. Gamito-Gómez, **I. Mesa-Sánchez**, S. Zaldívar-López, I. Lopez-Villalba, J. Morgaz-Rodríguez, C.G. Couto, A. Galán-Rodríguez (2011) Determination of biochemistry reference intervals in Galgo (Spanish Greyhounds). The 17th FECAVA (Federation of European Companion Animal Veterinary Associations) EuroCongress. Estambul, Turquía.
- **I. Mesa-Sánchez**, A. Gamito-Gómez, S. Zaldívar-López, M. M. Granados-Machuca, C. G. Couto, A. Muñoz Jurado, A. Galán-Rodríguez (2011) Serum protein electrophoresis in Galgos (Spanish Gryhounds). The 17st FECAVA

(Federation of European Companion Animal Veterinary Associations) EuroCongress. Estambul, Turquía.

- S. Zaldívar-López, **I. Mesa-Sánchez**, A. Galán-Rodríguez, J. J. Ceron, S. Martínez-Subiela, M. M. Granados-Machuca, C. G. Couto. (2011) Haptoglobin concentration in Galgos (Spanish Greyhounds) and references with closely related Greyhounds. European Congress of Veterinary Internal Medicine. Sevilla, España.
- J.C. Pizarro del Valle, **I. Mesa Sánchez**, A. Guisado Espartero, C. Martínez Bernal, A. Galán Rodríguez (2012). Frecuencia de expresión del antígeno eritrocitario canino (DEA) 1.1 en perros de raza Galgo Español en el sur de España. XXIX Congreso Anual de la Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía. Madrid, España.

#### **Ponencias en Cursos:**

- Ponencia "Transfusión de hemoderivados en perros". En el Curso "Urgencias y Cuidados Intensivos". Internacional Veterinary Students' Association-Barcelona. Universidad de Barcelona. Marzo de 2013
- Ponencia "Transfusión de sangre y hemoderivados en perros". En el II Curso "Urgencias y Cuidados Intensivos en Pequeños Animales". Universidad de Córdoba. Noviembre 2014

## **2.TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO**

- Proyecto de colaboración internacional entre la Universidad de Córdoba y The Ohio State University (2011-2012) para el "Desarrollo de un Banco de Sangre Canino en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba". El proyecto que contó con la participación de 18 investigadores (14 miembros de la Universidad de Córdoba y 4 miembros de la Universidad de Ohio), dio lugar al diseño y realización de estudios comparativos entre el Galgo Español y el Greyhound, además de la puesta en funcionamiento del Banco de Sangre Canino del HCV - UCO. Los investigadores principales fueron Guillermo C. Couto y Alba Galán Rodríguez.

- Dirección Clínica a cargo de Ignacio Mesa Sánchez del Banco de Sangre Animal SL desde Abril de 2015. Calle Medes Num 4-6, 08023 – Barcelona; NIF B66474727.

[www.bsanimal.es](http://www.bsanimal.es)

## **AGRADECIMIENTOS**

A través de estas líneas quiero expresar mi agradecimiento y gratitud a todos aquellos que han formado parte de este trabajo y han contribuido de una u otra manera para que finalmente sea una realidad:

A Alba Galán Rodríguez y María del Mar Granados Machuca, por vuestra magnífica labor como directora y codirectora de esta tesis doctoral, y por vuestro apoyo y confianza. Este trabajo nunca podría haber sido realizado sin vuestra ayuda.

A Rafael Ruiz de Gopegui por haberme introducido en el maravilloso mundo de la medicina interna y haber guiado mi aprendizaje en este campo.

A Sara Zaldivar López y Guillermo Couto por todo el apoyo prestado en la realización de este trabajo.

A mis compañeros del Hospital Clínico Veterinario y del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Córdoba, en especial a Carles, Pili, Carmen, Ignacio, Juan, Andrés, Juanma, Rocío, Funes, Sete y Rafa, por tan buenos momentos compartidos y por haberme enseñado hace años el camino a seguir, que aun hoy sigo recorriendo.

A mis padres Jose y Encarni, y a mi hermano Dani, porque sois todo para mí.

A Laura, por compartir conmigo y hacerme disfrutar cada día.



