

Variaciones fisiológicas, en el Ovejero Alemán, de los parámetros metabólicos y endocrinos más frecuentemente utilizados en el diagnóstico de hipotiroidismo canino

Physiological changes, in German shepherd, in metabolic and endocrine parameters most frequently used in the diagnosis of canine hypothyroidism

Pessina P^{1*}, Barcia M¹, Jericó M²,
Castillo V³

Recibido: 2/4/2014
Aprobado: 15/6/2014

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue investigar si las concentraciones plasmáticas de las hormonas tiroideas y metabolitos utilizados en el diagnóstico de hipotiroidismo, estaban afectados por el género y la edad. Se utilizaron 57 caninos de raza Ovejero Alemán, clínicamente sanos. Se agruparon por sexo (32 machos y 25 hembras intactas) y categoría etaria (jóvenes de 0 a 4 años y adultos de 5 a 12 años). La determinación de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL) se realizó en suero por espectrofotometría. Las hormonas se valoraron por radioinmunoanálisis (T4T) y ensayo inmunorradiométrico (TSH). Las concentraciones de T4T y TSH se vieron afectadas por el género, las hembras presentaron mayores concentraciones

SUMMARY

The aim of this study was to investigate if plasma concentrations of thyroid hormones and metabolites used in the diagnosis of hypothyroidism, hormones were affected by gender and age. For this purpose 57 German shepherd clinically healthy canines were used. They were grouped by sex (32 males and 25 females) and age category (young, 0-4 years and adults, 5-12 years). The determination of cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins, and low density lipoproteins in serum was measured by spectrophotometry. Hormones were measured by radioimmunoassay (T4T) and immunoradiometric assay (TSH). The concentrations of T4T and TSH were affected by gender (females had higher TSH and lower T4T concentrations, $P=0.036$

¹Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplaces 1620, Montevideo, Uruguay. ² Rua Joaquim Antunes, n. 611, ap. 62, São Paulo/SP, Brazil 05415-011.

³ Area Clínica Médica Pequeños Animales, U. Endocrinología, Universidad de Buenos Aires, 1427 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Autor para correspondencia. Correo electrónico: plessina@hotmail.com

de T4T (P=0,003) y menores de TSH (P=0,036). La edad también afectó estas variables, siendo animales jóvenes los que mostraron mayores niveles de T4T (P=0,006) y menores de TSH (P=0,002). Los niveles de colesterol (P=0,006) y triglicéridos (P=0,003) estuvieron afectados por el género, las hembras presentaron mayores concentraciones que los machos. Las fracciones lipídicas se modificaron con la edad: los animales jóvenes presentaron menores concentraciones de colesterol (P=0,062) y LDL (P=0,023) pero niveles más elevados de HDL (P 0.051). No se observó efecto de la edad en las concentraciones de triglicéridos. Se concluye que en perros clínicamente sanos de la raza Ovejero Alemán, el género y la edad afectaron algunos parámetros endocrino-metabólicos utilizados rutinariamente en el diagnóstico de hipotiroidismo canino.

Palabras claves:

canino, lipidograma, edad, género

and P=0.003, respectively) and age (young dogs showed higher TSH and lower TT4 levels, P=0.002 and P=0.006). The cholesterol and triglyceride levels were affected by the gender, females presented higher concentrations (P=0.006 and P=0.003, respectively). The lipid fractions were changed with age: young animals had lower levels of cholesterol and LDL (P=0.062 and P=0.023), but high levels of HDL (P=0.051). No age effect on triglyceride levels was detected. We conclude that in healthy German shepherd breed dogs, there are endocrine - metabolic parameters used in the diagnosis of hypothyroidism that are affected by gender and age.

Key words:

canine, lipidogram, age, gender

INTRODUCCIÓN

Las hormonas tiroideas actúan regulando la síntesis de colesterol y potencian la degradación hepática de éste en ácidos biliares. Por lo tanto el hipotiroidismo se asocia con una reducción en la degradación y síntesis de lípidos provocando una acumulación de los mismos en la circulación (Dixon, 2007). El colesterol es transportado en sangre unido a proteínas y lipoproteínas (complejo colesterol proteí-

na). Dentro de estas lipoproteínas encontramos los quilomicrones y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), que transportan principalmente triglicéridos y por otro lado las LDL y HDL (lipoproteínas de baja y alta densidad, respectivamente), que transportan principalmente colesterol. Los caninos y felinos a diferencia de los humanos, presen-

tan una mayor proporción de HDL que de LDL, por lo tanto la mayor parte del colesterol total es transportado por la fracción HDL (Bauer, 1997). El 75% de los casos de hipotiroidismo se manifiesta con hipercolesterolemia y frecuentemente hipertrigliceridemia. La hipercolesterolemia también se presenta como causa secundaria a otras enfermedades, principalmente de origen endócrino (Drobatz y Mandell, 2000; Thrall y col., 2001; Ruiz y col., 2009). Por lo tanto la determinación de colesterol y lipoproteínas es una herramienta diagnóstica fundamental en medicina veterinaria.

Por otro lado, existen factores fisiológicos que afectan la bioquímica sanguínea en general y la endocrina en particular, pero los reportes son escasos y contradictorios. Las concentraciones de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas en caninos están (Kaspar y Norris, 1977; Pessina y col., 2009; Pasquini y col., 2008, respectivamente) o no están (Coppo y col., 2003; Pasquini y col., 2008; Osorio, 2009, respectivamente), afectadas por el género. Son escasos los trabajos que evalúan el efecto de la edad sobre los niveles de lipoproteína de baja densidad, hay autores que reportan que los animales jóvenes presentan mayores concentraciones de LDL que los adultos, mientras que otros autores no han encontrado efecto (Pasquini y col., 2008; Coppo y col., 2003; Mori y col., 2011).

En relación a las hormonas del eje hipófiso-tiroideo, no se encontró efecto del sexo en las concen-

traciones de TSH (Pessina y col., 2010) y T4T (Reimers y col., 1990), mientras que la edad si las afecta (Weller y col., 1983; Reimers y col., 1990). Por lo dicho anteriormente es importante poder determinar los rangos de normalidad pero para ello se debe considerar si factores fisiológicos (edad y sexo, entre otros) son capaces de incidir en la concentración de algunos metabolitos y hormonas.

El objetivo de este trabajo es determinar si las concentraciones plasmáticas de Tiroxina total (T4T), Hormona estimulante de la tiroides (TSH), Colesterol, HDL, LDL y Triglicéridos en caninos sanos, de la raza Ovejero Alemán, son afectadas por el sexo y la edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental

El protocolo experimental contó con la aprobación de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República, Uruguay. Se utilizaron 57 perros clínicamente sanos, de la raza Ovejero Alemán, 32 machos y 25 hembras intactos, que se agruparon en dos categorías etarias (jóvenes de 0 a 4 años y adultos de 5 a 12 años).

Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción de la vena cefálica y se centrifugaron (3000 rpm por 15 minutos) para la obtención del suero,

estos se conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta ser analizadas en el Laboratorio.

Determinaciones hormonales

Las determinaciones hormonales y de metabolitos se realizaron en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay. Se determinó la concentración de T4T por radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida utilizando un kit comercial DPC (Diagnostic Product Corporation, Los Ángeles, USA). La sensibilidad del ensayo fue $0,36\text{ }\mu\text{g/dL}$. Los coeficientes de variación intraensayo para el control bajo ($0,74\text{ }\mu\text{g/dL}$) y control alto ($1,66\text{ }\mu\text{g/dL}$) fueron $7,5\%$ y $4,6\%$ respectivamente.

La TSH se determinó por un ensayo inmunorradiométrico (IRMA), utilizando un kit comercial DPC (Diagnostic Product Corporation, Los Ángeles, USA), específico para caninos. La sensibilidad del ensayo fue $0,02\text{ ng/mL}$. Los coeficientes de variación intraensayo para los controles bajos ($0,25\text{ ng/mL}$) y altos ($2,8\text{ ng/mL}$) fueron $10,6\%$ y $8,2\%$ respectivamente.

Determinaciones de metabolitos

Las concentraciones de todos los metabolitos fueron analizadas por espectrofotometría (Photometer, BTS-305, Biosystem). La determinación del colesterol, triglicéridos, HDL y LDL se realizó utilizando kits comerciales ByoSistemas S.A.,

Barcelona (España). Los coeficientes de variación intraensayo para los controles comerciales (Biochemistry control serum I y II, Biosystem) para todos los metabolitos fueron menores a 10% y 12% respectivamente.

Análisis estadístico

Las concentraciones de T4T, TSH, colesterol, HDL, LDL y triglicéridos se analizaron por el procedimiento mixto (Proc Mixed, Statistical Analysis System, SAS) incluyendo en el modelo como efecto fijo el sexo y la edad y las interacciones entre ambos. Coeficientes de correlación de Spearman fueron utilizados para describir las relaciones entre las variables. El nivel de significación fue $P < 0,05$ y los valores de P comprendidos entre $0,5$ y $0,10$ se consideraron como tendencia.

RESULTADOS

Los efectos del género y la edad sobre las concentraciones de los diferentes metabolitos y hormonas determinados en este estudio se resumen en el Cuadro 1. No hubo efecto significativo de la interacción de sexo y edad para ninguna de las variables analizadas.

Cuadro 1.

Valores de significación (P) para los efectos fijos del género y edad en las diferentes variables estudiadas

VARIABLES	SEXO	EDAD
T4T	0,003	0,006
TSH	0,036	0,002
Colesterol	0,006	0,062
Triglicéridos	0,003	NS
LDL	NS	0,023
HDL	NS	0,051

NS= no significativo.

Variables endocrinas

La concentración plasmática de T4T estuvo afectada por el sexo, presentando los machos valores menores que las hembras, ($1,41 \pm 0,1$ vs $1,96 \pm 0,1$ $\mu\text{g/dL}$, $P=0.003$) (Figura 1A). La edad afectó los niveles de T4T, los animales jóvenes presentaron mayores valores que los adultos, ($1,93 \pm 0,1$ vs $1,44 \pm 0,1$ $\mu\text{g/dL}$, $P=0.006$) (Figura 1B).

Los niveles plasmáticos de TSH estuvieron afectados por el sexo presentando las hembras valores menores que los machos, ($0,151 \pm 0,03$ vs $0,232 \pm 0,03$ ng/mL , $P=0.036$) (Figura 1C). La edad afectó los valores de TSH, los animales jóvenes presentaron valores menores que los adultos, ($0,132 \pm 0,03$ vs $0,252 \pm 0,03$ ng/mL , $P=0.002$) (Figura 1D).

Variables metabólicas

Las concentraciones de colesterol estuvieron afectadas por el sexo y la edad (Cuadro 1). Las hembras presentaron mayores concentraciones que los machos, ($2,15 \pm 0,045$ vs $1,98 \pm 0,039$ g/L , $P=0,006$) (Figura 2A). Las concentraciones de colesterol tendieron a ser mayores en los adultos que en los jóvenes ($2,12 \pm 0,043$ vs $2,01 \pm 0,043$ g/L , $P=0,062$) (Figura 2B). Los valores plasmáticos de triglicéridos estuvieron afectados por el sexo, las hembras presentaron mayor concentración que los machos, ($1,34 \pm 0,03$ vs $1,22 \pm 0,03$ g/L , $P=0.003$) (Figura 2C); no se encontró efecto de la edad para esta variable (Figura 2D). El sexo no afectó los valores plasmáticos de LDL (Figura 2E); pero sí hubo efecto de la edad, mostrando los animales jó-

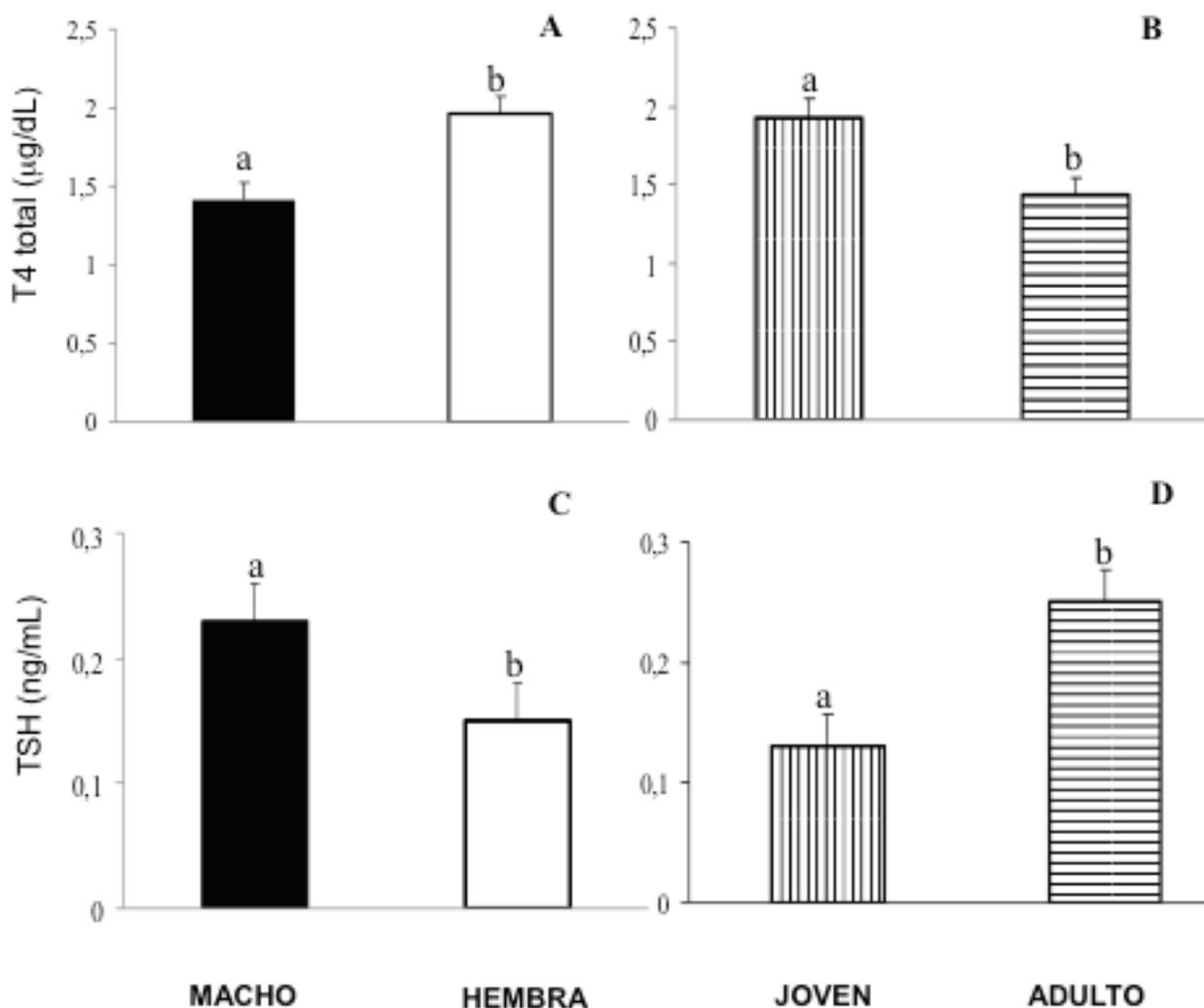


Figura 1. . Concentraciones de T4 Total y TSH en perros Ovejeros Alemanes sanos acorde al género y la edad. Las diferentes letras indican diferencias en el mismo gráfico, a, b: P<0.05.

venes menores niveles que los adultos, ($14,82 \pm 7,7$ vs $40,49 \pm 7,3$ mg/dL, $P=0,023$ (Figura 2 F). La concentración plasmática de HDL no fue afectada por el sexo (Figura 2G). La edad afectó significativamente la concentración plasmática de HDL presentando los animales jóvenes valores superiores a los adultos, ($105,32 \pm 8,1$ vs $82,24 \pm 8,3$ mg/dL, $P=0,051$ (Figura 2 H).

Correlaciones

El análisis de las correlaciones entre las variables estudiadas mostró que la T4T estuvo positivamente correlacionada con HDL ($r=0,36$, $P=0,009$, $n=53$) y correlacionada negativamente con LDL ($r=-0,34$, $P=0,018$, $n=48$). Las lipoproteínas de alta y baja densidad se correlacionaron negativamente ($r=-0,45$, $P=0,021$, $n=44$).

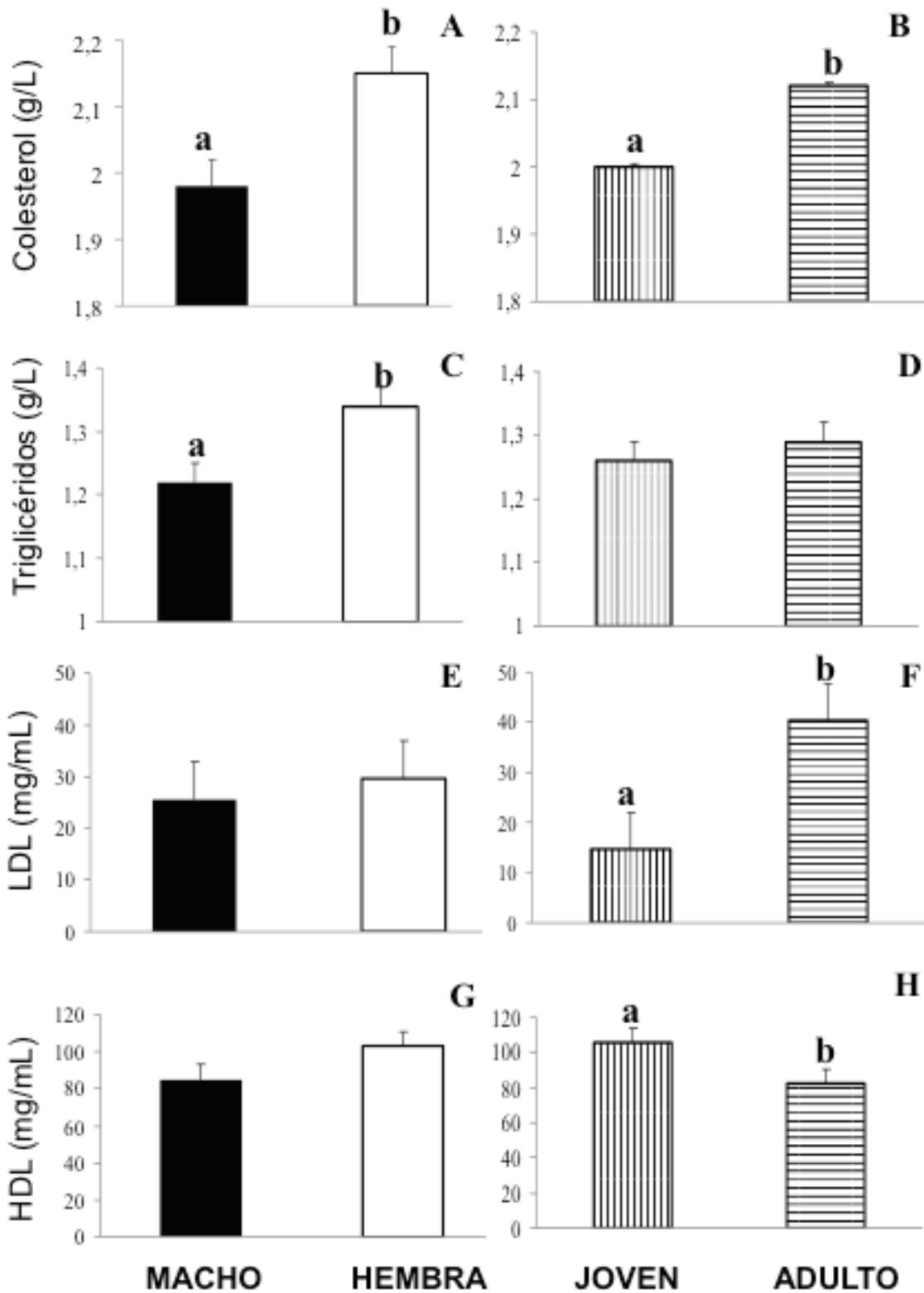


Figura 2. . Concentraciones de Colesterol, Triglicéridos, HDL y LDL en perros Ovejeros Alemanes sanos acorde al género y la edad. Las diferentes letras indican diferencias en el mismo gráfico, a, b:

P<0.05

DISCUSIÓN

Este estudio es el primer trabajo basado en muestras de perros Overo Alemán de Uruguay en el que se determina y evalúa en forma conjunta la concentración de hormonas tiroideas y las lipoproteínas de alta y baja densidad. Las concentraciones plasmáticas obtenidas para los metabolitos y las hormonas estudiadas (colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, T4T y TSH), se encontraron dentro de los rangos fisiológicos normales y coinciden con las reportadas en la bibliografía internacional para perros sanos (Kaneko, 1997).

Los niveles de T4T fueron netamente mayores en las hembras que en los machos, a pesar de no observarse diferencias estadísticas significativas. Estos resultados se contraponen a lo reportado en otros trabajos donde las concentraciones de T4T no variaron acorde al sexo (Reimers y col., 1990; Pessina y col., 2010). Se ha reportado que los estrógenos aumentan las proteínas de transporte (TBG), aumentando así las concentraciones de T4T (Arafah, 2001). Asimismo un mecanismo que podría explicar la mayor concentración de T4T registrada en las hembras, sería la asociación positiva encontrada entre las hormonas sexuales femeninas (estrógenos) y la insulina plasmática (Sosa y col., 2006), ya que esta última promueve la secreción de TRH (McCarty, 1995). Esto concuerda con lo reportado por Pessina y col. (2010), quienes reportaron mayores valores de insulina post ingesta en

las hembras que en los machos y a su vez una correlación positiva entre la T4T y la insulina. En este mismo sentido, Morimoto y col. (2001), en un estudio realizado en ratas, reportaron variaciones en la concentración de insulina sérica y la expresión del gen de insulina durante el ciclo estral y que estos se correlacionan con los niveles circulantes de E2 y P4. Las hembras presentaron mayores valores de T4T que los machos y éstos a su vez, niveles mayores de TSH. El presente hallazgo, es coincidente con el mecanismo de retroalimentación negativa conocido entre ambas hormonas. No hemos encontrados reportes en los que se estudie el efecto del género sobre la concentración de TSH. En un trabajo previo de nuestro grupo, no se encontró efecto del género en perros de raza Cocker Spaniel, si bien el número de animales utilizado en ese ensayo fue limitado (Pessina y col., 2010).

La concentración de colesterol en el plasma varió acorde al sexo, siendo mayor en las hembras que en machos. Estos datos son consistentes con lo reportado previamente en la bibliografía (Kaspar y Norris, 1977; Coles, 1989; Pasquini y col., 2008; Pessina y col., 2009; 2010). No obstante, otros autores no reportaron diferencias atribuibles al sexo (Coppo y col., 2003; Osorio, 2006; 2009). En cuanto a los triglicéridos, también las hembras presentaron valores superiores en relación a los machos. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Pessina y col., (2009), aunque otros autores no han encontrado cambios en relación al

género (Pasquini y col., 2008; Osorio, 2009). No se ha hallado efecto del género en la concentración plasmática de LDL-colesterol. En acuerdo con nuestros resultados, Osorio (2009), en un estudio realizado en 127 caninos adultos sanos (61 machos y 66 hembras), no encontró efecto a pesar de haber utilizado un método de determinación diferente para este metabolito (método Friedwal). En contraposición otros autores reportaron concentraciones de LDL superiores en los machos que en las hembras (Pasquini y col., 2008; Mori y col., 2011). Las concentraciones de HDL-colesterol, no mostraron diferencias en relación con el género, sin embargo, otros autores reportaron mayores concentraciones de HDL en las hembras que en machos (Barrie y col., 1993; Pasquini y col., 2008; Mori y col., 2011).

En relación a la edad, los animales jóvenes presentaron valores nítidamente superiores de T4 Total, lo cual es consistente con lo reportado por Reimers y col., (1990), quienes encontraron que las concentraciones de T4T disminuían al avanzar la edad y que en perros de 6 a 10 años disminuye un 50% con respecto a las concentraciones encontradas en cachorros. En el mismo sentido, otros autores reportaron un efecto significativo de la edad sobre las concentraciones de T4T siendo los jóvenes los que presentaron concentraciones más altas (Weller y col., 1983; Mooney y Peterson, 2007). Los niveles superiores de T4T en animales jóvenes estarían relacionados con una mayor tasa de crecimiento, desarrollo corporal y maduración de los centros de

osificación (De la Cruz Palomino, 1995; Castillo y col., 1998). Castillo y col., (1997) observaron que las concentraciones de T4T son elevadas en el ovejero alemán, doberman y gran danés hasta los 6 meses, para luego disminuir a las mismas concentraciones que en el adulto. Asimismo, Ramírez Benavidez y Osorio (2009) reportan cambios por edad en las concentraciones de T4 libres evaluadas por quimioluminiscencia, siendo menores en los perros mayores de 7 años en adelante y más elevadas en los más jóvenes.

La concentración plasmática de TSH en los perros adultos fue mayor que en los jóvenes. En acuerdo con nuestros resultados, Weller y col., (1984) reportaron que los niveles de TSH en caninos de raza Beagle, se incrementaban significativamente con la edad. En el mismo sentido, Reimers y col., (1990) reportaron que la sensibilidad de la glándula tiroidea a la TSH disminuye con la edad, debido a que el peso de la glándula tiroidea va disminuyendo a medida que el animal envejece y la glándula sintetiza menor cantidad de T4.

Las concentraciones de colesterol determinadas en este trabajo fueron mayores en animales adultos que en jóvenes lo que concuerda con lo reportado en otros estudios en los que se utilizaron un número mayor de animales, variedad de razas y edades diferentes (Kaspar y Norris, 1977; Osorio, 2009; Mori y col., 2011). Coppo, (2001) en humanos encontró que las concentraciones de colesterol

aumentan con la edad al igual que lo observado en caninos. Sin embargo, Gros Lambert y col., (1985) reportaron niveles de colesterol más bajos en caninos adultos. Las variaciones encontradas en estos resultados pueden deberse a los diferentes métodos de análisis utilizados y a ciertos factores como la raza, la edad, el sexo y la dieta que influyen sobre el metabolismo lipídico (Osorio, 2009).

Los niveles plasmáticos de triglicéridos aparentemente no variaron de acuerdo a la edad, lo cual es consistente con lo reportado en otros trabajos realizados en caninos de diferente género, edad y raza (Pasquini y col., 2008; Osorio, 2009). Los niveles de HDL y LDL, la concentración de HDL fue siempre mayor que la de LDL evidenciándose que las HDL son las lipoproteínas predominantes en el plasma del perro, siendo estas las más importantes transportadoras de colesterol. Por lo expuesto anteriormente el perro es considerado una especie con patrón HDL, (HDL>LDL) (Coppo y col., 2003; Meyer y Hervey, 2004; Castillo y col., 2010).

En el presente trabajo los animales adultos presentaron mayores concentraciones de LDL en comparación con los jóvenes, estos resultados coinciden con lo reportado por Osorio (2009) a pesar de utilizar una técnica de determinación diferente (método Friedewal). Mahley y Hui, (1981), observaron que perros inmaduros tenían mayor actividad de los receptores LDL que los perros maduros, estos hallazgos explicarían en parte nuestros resultados.

No obstante los resultados, en cuanto al efecto de la edad sobre los niveles de esta lipoproteína son discordantes, hay trabajos que reportan que son los animales jóvenes los que presentan mayores concentraciones de LDL y otros autores no encontraron efecto de la edad sobre los niveles de esta lipoproteína (Coppo y col., 2003; Pasquini y col., 2008).

Los valores de HDL determinados en este estudio fueron mayores en los animales jóvenes que en los adultos, lo cual es consistente con lo reportado por Osorio, (2008); mientras que otros autores no encontraron efecto de la edad sobre esta variable (Coppo y col., 2003).

CONCLUSIÓN

Resumiendo, en este estudio se demostró que en los perros clínicamente sanos, de la raza Ovejero Alemán, muchos de los parámetros metabólicos y endocrinos que se utilizan para el diagnóstico de hipotiroidismo pueden variar con el género y la edad, por lo tanto estos factores deben tenerse en cuenta en el momento de interpretar los resultados.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos agradecer a la Dra. Ana Meikle por sus aportes y la corrección de este manuscrito, así como a CSIC-UdelaR, Uruguay, (proyecto N° 111904) por el financiamiento de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arafah BM. (2001). Increased need for thyroxine in women with hypothyroidism during estrogen therapy. *N Engl J Med* 344:1743-1749
2. Barrie J, Watson TD, Stear MJ, Nash AS. (1993). Plasma cholesterol and lipoprotein concentration in the dog: the effect of age, breed and gender and endocrine disease. *J Small Anim Prac* 34:507-512.
3. Bauer JE. (1997). Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas. *Pet's Ciencia* 13:326-376.
4. Castillo, V; Rodríguez, MS; Lalia, J; Márquez, A. (1997). Parámetros bioquímicos-endócrinos de utilidad en la etapa de crecimiento del ovejero alemán, doberman y gran danés. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 29:105-111
5. Castillo V, Lalia J, Rodríguez M, Márquez AC. (1998) Morfología del crecimiento I: tablas percentiladas de alzada para el ovejero alemán y doberman. *Revista Medicina Veterinaria* 79:54-57.
6. Coles EH. (1986). Función del tiroides. En: Coles, EH. *Diagnóstico y Patología en Veterinaria*. México, Interamericana, pp. 231-235.
7. Coppo JA. (2001). Fisiología comparada del medio interno. Buenos Aires, Ed. Dunken, 315 p.
8. Coppo NB, Coppo JA, Lazarte MA. (2003). Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. *Revista Veterinaria* 14:3-10.
9. De la Cruz Palomino LF. (1995). Tiroides. En: García Sacristán A. De la Cruz Palomino LF. *Fisiología Veterinaria*. Madrid, Interamericana, pp. 707- 718.
10. Dixon, RM. (2007). Hipotiroidismo canino. En: Mooney, T.C.; Peterson, M. *Manual de Endocrinología en Pequeños Animales*. 3ª ed. España, Ed. S, pp.111-137.
11. Drobatz KJ, Mandell DC. (2000). Differential diagnosis of laboratory abnormalities in critical care settings. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp. 105-109.
12. Gros Lambert P, Foulon T, Groulade J, Groulade P. (1985). Lipid and lipoproteins in the normal dog in relation to age and sex. *Bull. Acad. Vet. France* 58:473-484.
13. Kaneko JJ. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed. San Diego, Academic Press, 916 p.
14. Kaspar LV, Norris WP. (1977). Serum chemistry values of normal dogs (beagles): associations with age, sex, and family line. *Lab. Anim. Sci.* 27:980-985.
15. Mahley RW, Hui D, Innerarity TL. (1981). Two independent lipoprotein receptors on hepatic membranes of dog, swine, and man. Apo-B, E and

- apo-E receptors. *J. Clin. Invest.* 68:1197–1206.
16. Mc Carty MF. (1995). Central insulin may up-regulate thyroid activity by suppressing neuropeptide Y release in the paraventricular nucleus. *Med Hypotheses.* 45:193-199.
17. Meyer DJ, Hervey JW. (2004). Evaluación de la función endócrina, metabolismo óseo y mineral y metabolismo de lípidos. En: Meyer DJ, Hervey JW. *Medicina Laboratorial Veterinaria. Interpretación y diagnóstico.* Barcelona, Veterinarias, pp. 293-328.
18. Mooney TC, Peterson M. (2007) *Manual de Endocrinología en Pequeños Animales.* 3ª ed., España, Ediciones S. 10: 111-137.
19. Mori N, Lee P, Kondo K, Kido T, Saito T, Arai T. (2011). Potential use of cholesterol lipoprotein profile to confirm obesity status in dogs. *Vet Res Commun* 35:223–235.
20. Morimoto S, Cerbón MA, Alvarez-Alvarez A, Romero-Navarro G, Díaz-Sánchez, V. (2001). Insulin gene expression pattern in rat pancreas during the oestrus cycle. *Life Sci.* 68:2979-2985.
21. Osorio JH. (2006). Total cholesterol and HDL-cholesterol in aging dogs. *Biosalud,* 5:19-24.
22. Osorio JH. (2009). The variability in the canine lipid profile values and its possible relationship with the measurement method used. *Vet. Zootec.* 3:70-77.
23. Pasquini A, Luchetti E, Cardini G. (2008). Plasma lipoprotein concentrations in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92(6):718-722.
24. Pessina P, Fernández-Foren A, Cueto E, Delucchi L, Castillo V, Meikle A. (2009). Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexametason tests in healthy female and male dogs. *Acta Vet Scand* 17:51:33.
25. Pessina P, Sosa C, Araújo M, Orellana B, Brambillasca S, Cajarville C, Meikle A. (2010). Perfiles metabólicos y endocrinos en perros sanos: influencia de la ingesta y el sexo. *Veterinaria (Montevideo)* 46:33-38.
26. Reimers TJ, Lawer DF, Sutaria PM, Correa MT, Erb HN. (1990). Effects of age, sex and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am J Vet Res.* 51: 454-457.
27. Ruiz P, Duque J, Zaragoza C, Barrera Chacón R. (2009). Incidencia de la hipercolesterolemia debido a enfermedades endocrinas e infecciosas en medicina canina. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100903.pdf>
28. Sosa C, Abecia JA, Forcada F, Viñoles C, Tasende C, Valares JA, Martín GB, Meikle A. (2006). Effect of undernutrition on endometrial gene expression of progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. *Reprod Fertil Dev* 18:447-458.
29. Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, De Nicola

D, Fettman MJ, Duane Lassen E, Rebar A, Weiser G. (2001). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia, Ed. Lippincot Williams&Wilkins, 421-429.

30. Weller RE, Park JF, Kinnas TC, et al. (1983). Basal serum thyroxine concentration and its response to thyroid stimulating hormone administration decreases with chronologic age in Beagles dogs (abstr.), in *Proceedings. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 38.
31. Weller RE, Apley GA, Schumacher RP. (1984). Serum thyroid-stimulating hormone (TSH) concentration in euthyroid, hypothyroid, and aged dogs (abstr), in *Proceedings. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 31.