

Universitat Autònoma de Barcelona

**Aspectos diagnósticos y pronósticos
de la concentración de albúmina en el paciente canino
con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica**

Tesis Doctoral

Carlos Torrente Artero

2014



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina i Cirurgia Animals

Facultat de Veterinària

Universitat Autònoma de Barcelona

**Aspectos diagnósticos y pronósticos
de la concentración de albúmina en el paciente canino
con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica**

Memoria presentada por: Carlos Torrente Artero

Para optar al Grado de Doctor en Veterinaria

Barcelona, Marzo 2014

Director de tesis: Rafael Ruiz de Gopegui



Universitat Autònoma de Barcelona

Rafael Ruiz de Gopegui Fernández, Profesor Titular del Departament de Medicina i Cirurgia Animals de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

INFORMA:

Que la tesis titulada: **Aspectos diagnósticos y pronósticos de la concentración de albúmina en el paciente canino crítico con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica**, de la que es autor el licenciado en veterinaria Carlos Torrente Artero, se ha realizado en la Facultat de Veterinaria de la Universidad Autònoma de Barcelona, bajo mi direcció.

Y para que así conste, a efectos de ser presentada como trabajo de Tesis Doctoral para optar al Grado de Doctor en Veterinaria, firmo este informe en Bellaterra a fecha de 20 de Febrero de 2014

Rafael Ruiz de Gopegui Fernández

“Daría todo lo que sé por la mitad de lo que ignoro”

René Descartes (1596-1650)

Agradecimientos

Agradecimientos

Finalmente lo que parecía imposible se ha hecho realidad. Se ha culminado un largo camino en el que sólo he hecho que caminar buscando respuestas. Pocas respuestas y muchas nuevas incógnitas... que han surgido como piedras de un camino cuyo final no adivino pero del cual sí he aprendido finalmente a disfrutar.

Como dice Antonio Machado: “... *al volver la vista atrás, se ve la senda que no has de volver a pisar...*”, sin embargo en mi caso sí quisiera volver la vista atrás para ver las huellas que me han ayudado a dibujar esta senda sin final pero sin las cuales no estaría donde estoy... ni sería lo que soy.

En primer lugar quisiera agradecer el soporte durante todos estos años de mi director, el Dr. Rafael Ruiz de Gopegui, por su paciencia, serenidad, sabiduría y buen humor; al Dr. Edgar García su diligencia y ayuda con la redacción y estadística de este trabajo, y a la Dra. Cecilia Villaverde su colaboración y buen hacer con mi inglés. A mis supervisores en la Comisión de Doctorado, la Dra. Rafaela Cuenca, el Dr. Santiago Lavín, y la Dra. Dolors Fondevila, por empujarme, animarme a seguir adelante y a valorar mis progresos. Y a todos los compañeros del despacho, en especial a la Dra. Cristina Costa, Dra. Thais Ribera y Laura Santos por hacerme mis horas de burocracia mucho más agradables.

Un especial agradecimiento a todos mis compañeros de profesión del Hospital Clínic Veterinari porque han sido, son y continuarán siendo un motivo de orgullo y de continua inquietud científica, sin los cuales no hubiera podido ni podría progresar. A todos los alumnos e internos que han pasado estos años por el Servicio de Emergencias y Cuidados Intensivos del FHCV, porque han sido un estímulo permanente para mí y un ejemplo de ingenuidad, voluntad y sacrificio. Y especialmente a mis compañeros de Servicio, Luis Bosch al cual considero un buen amigo y mejor cómplice; Maribel y Erika, manos derecha e izquierda en mi trabajo diario y a las cuales tienen mucho que agradecer mis pacientes. Y cómo no, a mis pacientes, de los cuales en

pocos casos recuerdo ya sus nombres, pero todavía hoy siguen siendo causa de desvelo, desafío y motivo continuo de superación.

Quisiera agradecer la colaboración de todos aquellos compañeros que de una forma u otra han colaborado en este trabajo y que por exigencias del guión me sería imposible enumerar. Mencionar especialmente y a título póstumo a Berta Juanola y al Dr. Luis Monreal, pioneros donde los haya, porque siempre creyeron en mí y en mi proyecto profesional.

Quisiera también agradecer especialmente a la Dra. Rebecca Kirby, al Dr. Steve Haskins y a la Dra. Karol Mathews su carisma, humildad y rigor. Han sido y son para mí un ejemplo de sacrificio y fuente de admiración profesional. Este camino no se hubiera iniciado sin la semilla que abonaron en mí sus textos, ejemplo y conversaciones sobre la ciencia y la vida.

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo incondicional y comprensión de mi familia. No tengo palabras para agradecer a Eloisa el enseñarme a querer cada día mejor compartiendo sueños.

Por último, quisiera agradecer y dedicar este trabajo en especial a mis padres. No hay nadie a quien deba más en la vida y a quién pueda expresar con simples palabras lo mucho que han forjado en mí. Como dice Julio Cortázar, las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma y... es verdad como la vida misma, donde no hay descripción mejor de lo que significa un beso o un abrazo que el propio gesto.

Muchas gracias a todos

Carlos

A mis padres

Indice

Indice

Abreviaturas	19
Introducción	23
1. Albúmina: descripción e implicaciones clínicas	25
1.1. Albúmina: Estructura molecular.....	25
1.2. Albúmina: Funciones.....	26
1.2.1. Albúmina y presión coloidosmótica.....	26
1.2.2. Albúmina y función transportadora.....	27
1.2.3. Albúmina y hemostasia.....	28
1.2.4. Albúmina y radicales libres.....	29
1.2.5. Albúmina y equilibrio ácido-base.....	29
1.2.6. Albúmina y endotelio vascular.....	30
1.3. Albúmina: Síntesis, distribución y degradación.....	30
1.4. Albúmina : fisiopatopatología de la hiperalbuminemia.....	32
1.5. Albúmina : fisiopatología de la hipoalbuminemia.....	32
1.5.1. Disminución de la síntesis de albúmina.....	33
1.5.2. Incremento de la pérdida de albúmina.....	34
1.5.3. Redistribución de la albúmina.....	35
1.5.4. Dilución de la albúmina.....	36
1.6. Hipoalbuminemia: Implicaciones clínicas.....	36
1.6.1. Hipoalbuminemia e implicaciones en el equilibrio ácido-base.....	37
1.6.2. Hipoalbuminemia y reacción de fase aguda.....	39
2. El paciente crítico: definición e implicaciones clínicas	40
2.1. Definición de paciente crítico.....	40
2.2. Monitorización del paciente crítico.....	42

2.2.1. Monitorización de la albúmina en el paciente crítico.....	42
3. Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)/sepsis:	
Definición e implicaciones clínicas.....	43
3.1. Definición.....	43
3.2. Incidencia del SIRS/sepsis en el paciente crítico.....	43
3.3. Riesgo de letalidad asociada al SIRS/sepsis en el paciente crítico.....	44
3.4. Evaluación, monitorización y aspectos pronósticos del SIRS/sepsis en el paciente crítico.....	44
Hipótesis.....	47
Objetivos.....	51
Estudios publicados.....	55
Estudio 1. A comparison of traditional and quantitative analysis of acid-base imbalances in hypoalbuminemic dogs.....	57
Estudio 2. Comparison of plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in SIRS/septic dogs.....	91
Discusión.....	119
Conclusiones.....	131
Resumen.....	135
Summary.....	141
Apéndices.....	145
Bibliografía.....	151

Abreviaturas

Abreviaturas

ACCP	<i>American College of Chest Physicians</i>
AG	Desfase aniónico
AG _{alb}	Desfase aniónico corregido por albúmina
AG _{alb-phos}	Desfase aniónico corregido por albúmina y fósforo
APP	Proteína de fase aguda
APPLE	<i>The Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Score</i>
AUC	Área bajo la curva
AT	Antitrombina
A _{tot}	Concentración total de ácidos débiles no volátiles
CRP	Proteína C-reactiva
Glu	Glucosa
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HH	Henderson-Hasselbalch
IL	Interleucina
PAM	Presión arterial media
PAS	Presión arterial sistólica
pCO ₂	Presión parcial de dióxido de carbono
PIRO	<i>The Predisposition, Infection, Response and Organ Failure</i>
ROC	Característica operativa del receptor
SBE	Defecto/Exceso de bases estandarizado
SCCM	<i>Society of Critical Care Medicine</i>
SID	Diferencia de iones fuertes
SIG	Desfase de iones fuertes
SIRS	Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
SPI2	<i>The Survival Prediction Index</i>
TNF	Factor de necrosis tumoral
TP	Proteínas totales
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos

Introducción

Introducción

1.Albúmina: descripción e implicaciones clínicas

La albúmina es una de las proteínas más importantes y ampliamente estudiadas en medicina humana. Su estructura molecular presenta similitudes con moléculas como la mioglobina o la hemoglobina y su secuencia de aminoácidos presenta semejanzas interespecíficas importantes.¹ De hecho, es esta peculiar estructura molecular la responsable del importante rol fisiológico que tiene en el organismo. La albúmina desempeña, entre otras muchas funciones, un papel determinante en el mantenimiento de la presión coloidosmótica plasmática, en el transporte de sustancias diversas, como mediador de la coagulación y en la inhibición del daño oxidativo.

1.1. Albúmina: Estructura molecular

La albúmina es una proteína con un peso molecular de aproximadamente 69.000 UD cuya estructura molecular presenta una homología estructural y evolutiva cercana al 85% entre diferentes especies animales y la especie humana.¹ Dependiendo de la especie, su estructura peptídica monocatenaria contiene entre 580 y 585 aminoácidos. Un gran número de éstos se encuentran cargados negativamente, lo cual confiere a la molécula de albúmina una elevada carga neta negativa, especialmente importante a pH fisiológico.² La albúmina es una proteína muy flexible y simétrica, cuya estructura de doble hélice se establece mediante 17 puentes disulfuro. Este tipo de enlaces le confieren una estructura elipsoide con doble disposición: una superficie externa polar y un canal central interno apolar, por lo que la albúmina presenta características tanto hidrofóbicas e hidrofílicas.^{3,4} La elevada solubilidad plasmática de la albúmina se debe a la naturaleza hidrofílica de la α -hélice externa.^{5,6} La carga neta negativa, su particular peso molecular y la peculiar estructura, previamente descrita, condicionan la

capacidad de retención de la albúmina en el compartimento vascular y consecuentemente el desarrollo de su papel fundamental en el mantenimiento de la presión oncótica plasmática.

1.2. Albúmina: Funciones

La albúmina desempeña un importante y múltiple rol en organismo que incluye el mantenimiento de la presión coloidosmótica plasmática⁷⁻¹¹ y el transporte de sustancias diversas, tanto endógenas^{9,12} (electrolitos [Ca^{2+} , Zn^{2+}], ácidos grasos, bilirrubina, vitaminas liposolubles, hormonas, etc.) como exógenas (fármacos).^{4,13,14} La albúmina contribuye al reservorio de aminoácidos destinado a la síntesis proteica y participa en la regulación del equilibrio ácido-base del organismo presentando una importante actividad tampón en fluidos extravasculares. Además, la albúmina previene la formación patológica de trombos plaquetarios, inhibe el daño oxidativo al captar radicales libres en estados inflamatorios y contribuye al mantenimiento fisiológico de la integridad endotelial y permeabilidad microvascular.

1.2.1. Albúmina y presión coloidosmótica

Una de las principales funciones de la albúmina es el mantenimiento de la presión oncótica o coloidosmótica plasmática. La presión oncótica viene definida por la fuerza generada por las macromoléculas presentes en el compartimento vascular que previenen el desplazamiento de agua desde el espacio intravascular al intersticial o intracelular. A pesar de que la concentración de albúmina supone aproximadamente el 50% del total de proteínas plasmáticas presentes en sangre, ésta proporciona cerca del 80% de la capacidad oncótica.⁷ La mayor parte de este efecto se debe a su peculiar estructura molecular, su relativa abundancia en el compartimento plasmático y su carga neta negativa. La carga negativa de la albúmina atrae iones sodio y otros cationes a su estructura nuclear (efecto Gibbs-Donnan).¹⁰ Esta acumulación nuclear de cationes atrae y desplaza agua a través de las membranas semipermeables del

endotelio capilar, contribuye a su retención intravascular y al mantenimiento de la volemia. De hecho, cada gramo de albúmina es capaz de retener hasta 18 ml de agua en el compartimento intravascular.⁸

Aunque la presión coloidosmótica intravascular es un factor determinante en la distribución inter-compartimental de fluidos, hay otras fuerzas como la permeabilidad endotelial y tisular a la albúmina, las presiones hidrostáticas intravascular e intersticial y la capacidad de drenaje linfático intersticial que pueden determinar la dinámica final de fluidos en el organismo.¹⁵ En animales sanos, además de la albúmina proteínas como el fibrinógeno o las globulinas plasmáticas también contribuyen al mantenimiento de la presión oncótica del plasma. De hecho, la mayor parte de la albúmina presente en el organismo no se encuentra en el compartimento intravascular sino en el intersticial. La albúmina intersticial puede recircular y volver al compartimento intravascular a través de los vasos linfáticos, manteniendo así el gradiente de presión coloidosmótica existente entre compartimentos y la preservación de un volumen circulante efectivo en todo momento.

En situaciones de hipoalbuminemia aguda, la presión coloidosmótica intersticial puede exceder la intravascular. Así pues, si se sobrepasa la capacidad del sistema linfático para retornar fluidos al espacio intravascular, puede acontecer la presencia de edema intersticial.¹⁶ En caso de edema o derrame puede verse comprometido el mantenimiento de la volemia, la integridad microcirculatoria así como la difusión de oxígeno y nutrientes a las células.

1.2.2. Albúmina y función transportadora

La albúmina es fundamental como molécula transportadora de sustancias (endógenas y exógenas) a sus destinos de acción, metabolismo y excreción. Por tanto, vinculada a la citada función transportadora la albúmina también ejerce de reservorio para

determinadas sustancias regulando, de forma indirecta, su concentración plasmática. Esta capacidad de reservorio es más importante en tanto en cuanto se trata de sustancias no hidrosolubles;⁴ ya sean neutras, básicas o ácidas.¹⁷ La albúmina transporta sustancias endógenas como la bilirrubina, ácidos grasos, radicales libres, oligoelementos (calcio, cobre), hormonas (glucocorticoides, tiroxina), vitaminas liposolubles y aminoácidos (cisteína, triptófano).¹⁸ Sin embargo, también transporta sustancias exógenas como antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos (cefalosporinas, penicilinas, sulfamidas, tetraciclinas), antiarrítmicos (propranolol, quinidina, digoxina), diuréticos de asa, bloqueantes de calcio, fenotiazinas, benzodiazepinas, barbitúricos y algunos antidepresivos tricíclicos (amitriptilina).¹⁸

Las capacidades de retención y transporte de la bilirrubina, fármacos y ácidos grasos de cadena larga son las de mayor implicación clínica en el paciente crítico con hipoalbuminemia.⁹

1.2.3. Albúmina y hemostasia

La albúmina es un inhibidor hemostático ya que evita la formación patológica de trombos. La albúmina tiene la capacidad de fijar ácido araquidónico, disminuyendo sus niveles plasmáticos y previniendo así la activación plaquetar y la formación de trombos.¹² Además, la albúmina ha demostrado tener *in vitro* una actividad hemostática semblante a la de la heparina al potenciar la actividad de la antitrombina (AT) e inhibir el factor Xa.¹⁹

La hipoalbuminemia puede conllevar la potenciación de la agregación plaquetar y la disminución en la actividad de la antitrombina, por lo que es un factor que puede contribuir a la incidencia de fenómenos trombóticos en el paciente crítico. De hecho, se ha descrito en la bibliografía una mayor incidencia de estados protrombóticos en pacientes con nefropatía perdedora de proteínas, enteropatía con pérdida de

proteínas, diabetes mellitus, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y sepsis.²⁰

1.2.4. Albúmina y radicales libres

Otra de las funciones importantes de la albúmina, especialmente en el paciente crítico, es su capacidad para captar sustancias generadas en la inflamación. En la respuesta inflamatoria, la liberación de radicales libres y la peroxidación lipídica es la causa principal de la lesión tisular.¹² En el foco inflamatorio, gran parte de la albúmina se utiliza para captar radicales libres²¹ pero otras muchas moléculas de albúmina sufren un proceso de desnaturalización vinculado a la captación de endotoxinas bacterianas y a los cambios tisulares de temperatura y pH. Este proceso de desnaturalización conlleva la liberación parcial y progresiva de aminoácidos que a su vez pueden destinarse a los procesos de reparación tisular.

La combinación de estos factores: degradación por toxinas, desnaturalización y pérdida de albúmina intravascular por incremento de la permeabilidad endotelial son los principales responsables de la hipoalbuminemia que con frecuencia presenta el paciente con SIRS y sepsis.

1.2.5. Albúmina y equilibrio ácido-base

Un tampón se define como toda molécula con capacidad para aceptar o donar protones (hidrogeniones) contribuyendo a minimizar variaciones del pH. Aunque el bicarbonato se considere el principal tampón extracelular, el 80% de la capacidad tampón de la sangre no vinculado a este sistema reside en la hemoglobina. Del 20% restante, la albúmina es la proteína plasmática con mayor capacidad tampón: 0,14 mmol/g/unidad de pH²² La capacidad tampón de la albúmina está vinculada a la presencia de grupos disociables a pH fisiológico en su estructura molecular;

fundamentalmente anillos imidazólicos en los residuos de histidina y grupos aminoterminales, cuyos pK_a son respectivamente 6,4-7,8 y 7,4-7,9.²² La actividad tampón de la albúmina puede llegar a ser relevante en el compartimento extravascular (pe. líquido ascítico)²³ y en determinadas circunstancias, lo cual puede afectar o condicionar el tratamiento y evolución del paciente en estado crítico.

1.2.6. Albúmina y endotelio vascular.

La albúmina, como se ha mencionado con anterioridad en el texto, contiene multitud de residuos aminoácidos cargados negativamente que confieren a la molécula una carga neta negativa (-19) a pH fisiológico.^{2,5} La mayoría del endotelio vascular del organismo tiene un tamaño de poro de 6-7 nm de diámetro, tamaño ligeramente inferior al peso molecular de la albúmina. Son por tanto, y como también se ha mencionado anteriormente en el texto, la carga negativa de la molécula y su mayor peso molecular (69.000 UD) los que favorecen su retención en el compartimento intravascular. Ello contribuye al mantenimiento de la presión oncótica, la dinámica de fluidos y la estabilidad microcirculatoria. Aunque los mecanismos no son del todo conocidos, la albúmina parece contribuir de manera directa al mantenimiento de la integridad microvascular aumentando la resistencia al agua y los flujos de solutos a través de vías hidráulicas presentes en la pared capilar.¹²

1.3 Albúmina: Síntesis, distribución y degradación

La síntesis de albúmina acontece en el hígado constituyendo tal proceso cerca del 50% del esfuerzo metabólico de este órgano.⁴ Aunque se ha descrito la síntesis residual de albúmina en la glándula mamaria y el músculo esquelético²³ se considera que el hígado es el principal órgano responsable de la síntesis de albúmina.

El proceso de síntesis viene regulado por diversos factores entre los cuales cabe destacar el estado nutricional, la presión coloidosmótica plasmática^{4,8,24} la concentración intracelular de potasio y las concentraciones de cortisol, tiroxina, insulina, testosterona y hormona del crecimiento.⁹ Sin embargo, en condiciones normales, el proceso de síntesis está mayormente condicionado por el estado nutricional y fundamentalmente por la presión coloidosmótica del intersticio hepático. Cuando disminuye la presión coloidosmótica, la síntesis de albúmina puede llegar a triplicarse. En condiciones normales, la tasa de renovación diaria de albúmina es cercana al 4% del total de albúmina presente en el organismo.⁵

En la especie canina, la concentración de albúmina plasmática normalmente oscila entre 2,5-4,5 g/dL y representa el 30-40% de la albúmina total.⁸ La mayor parte de ésta, permanece en el compartimento intersticial de la piel, músculo, hígado, pulmón, corazón, riñón y bazo.⁸

Tras su síntesis, la distribución de la albúmina hacia el remanente extracelular se reequilibra, en individuos normales, en el plazo de 7-14 días.²⁵ Aproximadamente entre el 75-80% de la albúmina intravascular completa su intercambio con el remanente intersticial o extravascular en el plazo de 2-3 días.²⁴ Como se ha mencionado con anterioridad, cuando las concentraciones de albúmina intravascular disminuyen, se desplaza albúmina del intersticio, a través de los vasos linfáticos y la vena cava craneal hasta el compartimento intravascular.^{8,26} Así pues, el remanente extravascular de albúmina actúa como reservorio para el reemplazo de albúmina intravascular durante los periodos de estrés, en los que la síntesis disminuye o se producen pérdidas agudas. Cuando la tasa de albúmina en sangre se restablece, los primeros depósitos reemplazados son los intersticiales.⁸

Respecto a los mecanismos relacionados con el catabolismo de la albúmina, éstos se desconocen en gran medida. El catabolismo de la albúmina acontece mayoritariamente (60%) en el músculo y la piel, aunque el hígado y los riñones pueden contribuir en menor medida. De hecho, hasta un 10% de la albúmina presente en el organismo se pierde de forma natural a

través del tracto gastrointestinal y de la piel. En cualquier caso, se desconoce el mecanismo regulador que determina qué moléculas de albúmina son seleccionadas para ser degradadas y catabolizadas dado que no se han descrito cambios estructurales en su estructura molecular vinculados a tal proceso. En consecuencia, la vida media de la albúmina puede ser variable. En cualquier caso la vida media esperada de la albúmina en la especie canina, es de 8 días.²⁷

Sí se ha descrito, sin embargo, que la tasa de catabolismo de la albúmina depende de fenómenos de autorregulación.²⁵ Teniendo en cuenta los niveles de síntesis y degradación existentes en cada momento, la albuminemia depende del grado de pérdidas o degradación, el intercambio existente entre el compartimiento intra- y extravascular y el volumen de dispersión.⁸

1.4. Albúmina : fisiopatología de la hiperalbuminemia

La hiperalbuminemia se define cuando la concentración de albúmina es superior a 4 g/dL en la especie canina.²⁸ En el ámbito del paciente crítico, la hiperalbuminemia suele estar vinculada a deshidratación o errores laboratoriales. Aunque en medicina humana se han descrito incrementos en la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina asociados a tratamientos con esteroides anabolizantes, corticoides, progesterona, insulina y hormonas tiroideas, la hiperalbuminemia se considera poco significativa en el paciente crítico. En medicina veterinaria se ha descrito la hiperalbuminemia transitoria y reversible en perros sometidos a tratamientos prolongados con elevadas dosis de corticoides.²⁹ Sin embargo, las implicaciones en el paciente crítico veterinario también se consideran irrelevantes.

1.5. Albúmina : fisiopatología de la hipoalbuminemia.

La hipoalbuminemia se define cuando la concentración de albúmina es inferior a 2,5 g/dL en la especie canina.²⁸ La hipoalbuminemia leve y moderada (2-2,5 g/dL) habitualmente no tiene consecuencias clínicas, pero la hipoalbuminemia grave (<2 g/dL) puede condicionar el curso

clínico del paciente e influir negativamente en su recuperación y pronóstico. De hecho, numerosos estudios en medicina humana³⁰⁻³² y algunos de medicina veterinaria^{33,34} han demostrado que la presencia de hipoalbuminemia está correlacionada con un peor pronóstico. Tales tasas morbi-mortalidad en pacientes críticos se han vinculado a problemas relacionados con la distribución del agua inter-compartmental, la incapacidad para mantener un volumen plasmático adecuado y el riesgo de trombosis. Aunque la hipoalbuminemia en el paciente enfermo puede deberse a una disminución de su síntesis, un incremento de las pérdidas, la redistribución de la albúmina al espacio extravascular y a la dilución en el compartimento intravascular, en la mayoría de pacientes la causa de la hipoalbuminemia es multifactorial.

1.5.1. Disminución de la síntesis de albúmina

Desde el punto de vista clínico, la reducción significativa en la capacidad de síntesis de la albúmina se debe con frecuencia a la presencia de insuficiencia hepática, inflamación grave o malnutrición (aguda o crónica).

Como se ha mencionado con anterioridad en el texto, el hígado es el principal órgano responsable de su síntesis de modo que si el fallo orgánico supone una pérdida funcional $\geq 75\%$ se produce la hipoalbuminemia.¹⁸ Sin embargo, la hipoalbuminemia presente en este tipo de pacientes no sólo está originada por el alto grado de afectación funcional sino que, con frecuencia también, se ve influida por otros factores como la presencia de inflamación orgánica concurrente, hipertensión portal y fenómenos de exudación al fluido ascítico a través de la cápsula de Glisson o las vías linfáticas del hígado.⁷

La inflamación es otra causa de hipoalbuminemia ampliamente descrita en la bibliografía. Durante el proceso inflamatorio, las citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina 1 (IL-1) condicionan y derivan la utilización de

aminoácidos no esenciales a la síntesis de proteínas de fase aguda: globulinas, fibrinógeno y haptoglobina, entre otras. La albúmina se considera una proteína de fase aguda negativa, porque la respuesta inflamatoria reduce su síntesis. La disminución de la albuminemia por inflamación puede ser rápida y significativa, cerca de 0,5 g/dL en seres humanos.³⁰ En la especie canina no se ha cuantificado, pero se estima que el proceso inflamatorio causa *per se* hipoalbuminemia moderada.

La malnutrición es otra causa importante de hipoalbuminemia vinculada a síntesis insuficiente y ha sido ampliamente referenciada en la bibliografía médica. De hecho, la síntesis de albúmina disminuye cerca del 50% tras 24 h de ayuno, siendo esta disminución especialmente pronunciada cuando predomina la malnutrición proteica. Aunque la disponibilidad de aminoácidos (leucina, valina, arginina, isoleucina) sea limitada, desde el punto de vista clínico la disminución de la concentración de albúmina sólo es aparente en el paciente con malnutrición crónica. Si en este tipo de pacientes, concurren malabsorción crónica de nutrientes y pérdidas incrementadas, se agrava el grado de malnutrición y la cronicidad y reversibilidad de la hipoalbuminemia.⁶ Por el contrario, en el paciente sano con malnutrición aguda, la capacidad de síntesis hepática rápidamente se normaliza cuando se instaura el soporte nutricional.⁷

1.5.2. Incremento de la pérdida de albúmina

La mayor parte de las hipoalbuminemias graves suelen estar vinculadas a patologías que cursan con pérdida de proteína. En el ámbito clínico las pérdidas anormales de albúmina se producen por hemorragia y pérdidas de proteína a través de la piel y el tracto gastrointestinal o renal. En general, la hipoalbuminemia asociada a pérdida de sangre no suele conllevar dificultades diagnósticas para el clínico. En el caso de las

patologías gastrointestinales y renales, tanto agudas como crónicas, la pérdida de albúmina puede llegar a ser significativa y grave.

En las nefropatías perdedoras de proteínas como la glomerulonefritis o la amiloidosis, se produce una disrupción del mecanismo de filtrado glomerular caracterizado por la pérdida de polaridad negativa de la membrana basal y el incremento en el tamaño de sus poros.³⁵ Tales condiciones favorecen la filtración y pérdida glomerular de albúmina y un mayor grado de catabolismo de la propia albúmina en los túbulos renales. Aunque este último mecanismo puede contribuir significativamente a la hipoalbuminemia en este tipo de pacientes, no se conocen con exactitud los mecanismos vinculados a tal fenómeno.²³ Dado que proteínas de mayor peso molecular se retienen en el glomérulo lesionado, la hipoalbuminemia en estos pacientes se acompaña de concentraciones normales o incluso incrementadas, según la patología causal, de las globulinas séricas.

La pérdida de albúmina por vía dérmica y gastrointestinal conlleva la pérdida a través de amplias superficies de exudación como son la piel o el intestino. La presencia de quemaduras extensas o de enfermedad inflamatoria intestinal conlleva la pérdida simultánea de proteínas séricas por lo que es frecuente en estos pacientes encontrar concurrentemente hipoalbuminemia e hipoglobulinemia. La combinación de ambos hallazgos se denomina panhipoproteinemia. En estas patologías suele haber malabsorción nutricional por lo que la captación insuficiente o inadecuada de aminoácidos puede conducir a fenómenos de malnutrición crónica y exacerbar el estado hipoalbuminémico en muchos de estos pacientes.⁶

1.5.3. Redistribución de la albúmina

La redistribución de la albúmina entre compartimentos (extra e intravascular) acontece en procesos patológicos que cursan con inflamación serosa pleural, peritoneal o vascular con afectación de la porosidad y permeabilidad de los endotelios.

En este tipo de patologías, el grado de redistribución de la albúmina está muy relacionado con la gravedad y extensión del fenómeno inflamatorio. En pacientes con choque séptico, el incremento de permeabilidad capilar puede incrementar las pérdidas de albúmina trans-capilar en un 300%.³⁶ Dado que este fenómeno de redistribución suele darse en procesos inflamatorios, la disminución de la síntesis asociada a la respuesta de fase aguda exacerba el proceso conforme se agrava el fenómeno inflamatorio.

1.5.4. Dilución de la albúmina

La hipoalbuminemia asociada a dilución suele presentarse de forma iatrogénica vinculada a la administración de fluidoterapia y hemodilución consiguiente. La terapia con fluidos intravenosos puede derivar en hipoalbuminemia cuando es muy agresiva o cuando se trata de pacientes normovolémicos o con plétora. Así pues, pacientes con insuficiencia cardíaca o fallo renal anúrico u oligúrico pueden presentar hipoalbuminemia con facilidad. No obstante, la significación clínica de tal disminución dependerá de la presencia o no de otras causas concurrentes de hipoalbuminemia.

1.6. Hipoalbuminemia: Implicaciones clínicas

Como se ha mencionado anteriormente, la hipoalbuminemia en el paciente crítico suele ser de origen multifactorial e interdependiente y se ha correlacionado con el aumento de las tasas de morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes. En el paciente crítico, la hipoalbuminemia se ha vinculado a complicaciones graves tales como la disfunción orgánica múltiple,^{25,37} el edema pulmonar,^{38,39} la intolerancia al soporte nutricional enteral,^{40,41} la reparación tisular deficiente (retraso de la cicatrización de heridas)⁴²⁻⁴⁴ y los estados de hipercoagulabilidad.⁴⁵⁻⁴⁷ La prevalencia de hipoalbuminemia en el paciente crítico es elevada por lo que en este tipo de paciente es un factor complicante que incide directamente en la morbilidad y mortalidad.^{37,48-}

⁵⁰ De hecho, la hipoalbuminemia se considera un factor de pronóstico negativo en este tipo de pacientes, tanto en medicina humana como veterinaria.^{49,51-53}

1.6.1. Hipoalbuminemia e implicaciones en el equilibrio ácido-base.

Las proteínas séricas, especialmente la albúmina, actúan como tampones débiles no volátiles. Dada la extensión y distribución de la albúmina en el organismo, ésta desarrolla un papel significativo en el mantenimiento del equilibrio ácido-base ejerciendo su función en el espacio extracelular, es decir, en el compartimento intravascular y el compartimento intersticial.⁵⁴⁻⁵⁶ En el paciente crítico la incidencia de desequilibrios ácido-base y electrolíticos es elevada. En consecuencia, es aconsejable la evaluación seriada de los mismos. Tradicionalmente se ha utilizado la ecuación propuesta por Henderson-Hasselbalch (modelo tradicional) para la evaluación de estado ácido-base del paciente. La simplicidad conceptual y de cálculo de este método han hecho que sea el método más comúnmente utilizado en medicina intensiva, tanto humana como veterinaria. Este método se basa en la relación existente entre el pH, la presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) y la concentración de bicarbonato (HCO_3^-). Sin embargo, esta aproximación presenta limitaciones si se considera que no permite la evaluación completa de los cambios fisiopatológicos del componente metabólico del equilibrio ácido-base en las condiciones clínicas que a menudo presenta el paciente crítico. Este método asume que los cambios electrolíticos y los cambios en el estado ácido-base no están directamente relacionados y tampoco reconoce que cambios importantes en la concentración de hidrogeniones (H^+), y por tanto del pH, pueden venir condicionados por las concentraciones de proteínas plasmáticas y fosfatos. Así pues, este modelo de evaluación sólo puede aplicarse con precisión cuando el paciente tiene concentraciones normales de albúmina, globulinas, y hemoglobina. Como se ha

mencionado con anterioridad tales condiciones son precisamente poco frecuentes en el paciente crítico.^{41,42}

Por todo ello, se han descrito otros métodos de evaluación, entre los cuales se encuentra el modelo de iones fuertes de Stewart o modelo cuantitativo. El método cuantitativo permite una aproximación más detallada precisamente a los disturbios ácido-base de origen no respiratorio o metabólico. El modelo cuantitativo se ha aplicado tanto en medicina humana como en veterinaria, en sucesivos desarrollos del mismo y simplificaciones de sus fórmulas y protocolos a fin y efecto de facilitar su aplicación clínica.⁵⁷⁻⁵⁹

Teóricamente, la principal ventaja de este modelo es que permite explicar las variaciones del pH en función de las alteraciones en la concentración de dióxido de carbono, las concentraciones de tampones débiles no volátiles (albúmina, globulinas, y fosfatos), así como en función de la diferencia en la concentración de iones fuertes (sodio y cloro).

El hecho de que la propia hipoalbuminemia tiende a incrementar el pH y genera alcalosis metabólica se describió por primera vez en seres humanos en 1986.⁶⁰ De hecho, hoy en día la alcalosis metabólica se reconoce como un desequilibrio común en enfermos críticos.⁵⁸ En estos pacientes, la principal consecuencia de la hipoalbuminemia es que complica la identificación de concentraciones incrementadas de aniones no medidos (p.e. lactato, cetoácidos) ya que la hipoproteinememia aumenta el pH y disminuye el desfase aniónico (AG). Por todo ello, la gravedad de las enfermedades o patologías que cursan con acidosis metabólica puede ser subestimada si los efectos de la hipoalbuminemia en el pH, HCO_3^- y AG no se tienen en consideración.^{55,61}

Los valores de pH sanguíneo, SBE,⁶² SID,⁶³ SIG,^{64,65} lactato^{66,67} y albúmina⁶⁸ han sido evaluados de forma reiterada en medicina humana como posibles factores de valor pronóstico en pacientes críticos. Sin embargo, su utilidad real sigue siendo controvertida atendiendo a los resultados publicados en la bibliografía.⁶⁹

Posiblemente y en opinión del autor, la no consideración de la influencia de la albúmina en muchos de estos parámetros podría ser uno de los factores que ayudaría a explicar la disparidad de resultados obtenidos en lo que respecta al valor pronóstico positivo o negativo de tales parámetros ácido-base.

1.6.2. Hipoalbuminemia y reacción de fase aguda

La reacción o respuesta de fase aguda es la reacción que se produce en el animal como respuesta a disturbios de la homeostasia causados por infección, daño tisular, crecimiento neoplásico o desordenes inmunológicos.⁷⁰ La reacción de fase aguda es una respuesta orgánica sistémica, compleja e inespecífica vinculada a lesión tisular. Ésta acontece poco después de iniciarse la lesión tisular y su propósito es restaurar la homeostasis del organismo y eliminar la causa responsable del proceso.^{71,72} En respuesta a tal lesión las células inflamatorias locales (granulocitos, neutrófilos y macrófagos) segregan toda una serie de citoquinas al torrente sanguíneo, como la IL-1, IL-6, IL-8, y TNF- α que modifican la síntesis proteica hepática.

La reacción de fase aguda se caracteriza por efectos sistémicos como la fiebre, la leucocitosis, la hipercortisolemia, la disminución de las concentraciones de tiroxina, lipólisis, gluconeogénesis, catabolismo proteico muscular, la disminución de los niveles de zinc y hierro plasmáticos⁷³ y, principalmente, los cambios en la concentración de las denominadas proteínas de fase aguda (APPs).

La síntesis de APPs constituye un componente esencial y precoz de la respuesta de fase aguda, que acontece poco después de instaurarse el daño tisular. Su etiología es

infecciosa, inmunológica, neoplásica o traumática.^{74,75} La respuesta de algunas APPs (p.e. albúmina y transferrina) es la disminución significativa de su concentración plasmática (proteínas de fase aguda negativas). Por el contrario, otras APPs como la haptoglobina, la amiloide sérica A, la ceruloplasmina, el fibrinógeno y la proteína C reactiva, sufren un incremento en sus concentraciones plasmáticas (proteínas de fase aguda positivas). Hay pruebas de que estos biomarcadores, pese a ser inespecíficos, pueden ser útiles durante la evaluación de la gravedad de la enfermedad, la respuesta al tratamiento y el pronóstico.⁷⁶⁻⁷⁹

Aunque la incidencia del SIRS sea creciente en el ámbito clínico veterinario, hay pocos datos sobre su incidencia clínica real, la mortalidad asociada y la utilidad de biomarcadores en la valoración diagnóstica y de la progresión clínica en la bibliografía.

La hipoalbuminemia es un signo frecuente en el paciente crítico, y especialmente frecuente en el paciente séptico o con SIRS. De hecho, en medicina humana se ha publicado que la propia reacción de fase aguda pudiera tener un papel predominante sobre otros factores tales como el estado nutricional, en la albuminemia de estos pacientes.⁸⁰ Aunque la determinación de las concentraciones de albúmina en plasma se ha considerado tradicionalmente útil en la detección de enfermedades inflamatorias en la especie canina, tiene la desventaja de ser una APPs poco-específica, y de evolución lenta. Sin embargo, la albúmina es un parámetro fácil, rápido y barato de determinar por lo que podría desempeñar un papel en el diagnóstico y seguimiento del fenómeno inflamatorio en pequeños animales.⁸¹

2. El paciente crítico: definición e implicaciones clínicas

2.1. Definición de paciente crítico

El paciente crítico puede definirse como todo enfermo con patología grave y disfunción actual o potencial de uno o varios órganos que represente riesgo vital pero que al mismo tiempo es

susceptible de recuperación.⁸² Así entendido, el paciente crítico requiere de una actuación eficaz y rápida según el diagnóstico, el soporte de sus funciones vitales, la monitorización continua así como en el tratamiento de las enfermedades que lo provocan. El abordaje y tratamiento adecuado de este tipo de pacientes constituye pues el escalón más avanzado del esquema gradual de atención al paciente hospitalizado.

2.2. Monitorización del paciente crítico.

Diversas patologías y complicaciones habituales en el paciente hospitalizado pueden condicionar la transición súbita y/o inesperada del paciente enfermo a crítico, es decir, al desarrollo de complicaciones graves o de riesgo vital que puede conllevar la incapacidad o fallecimiento del paciente en minutos o horas desde su detección.⁸³ Entre éstas cabe destacar la hemorragia, la disfunción cognitiva, el incremento de la presión intracraneal, la infección, la sepsis y el fallo multiorgánico.⁸⁴

La evaluación y monitorización ideal del paciente crítico debe permitir la detección precoz de alteraciones fisiológicas o metabólicas que permitan reducir el riesgo iatrogénico y prevenir el riesgo vital. El tipo y frecuencia de la monitorización depende de los recursos técnicos y humanos disponibles, pero debe basarse en la enfermedad del paciente, su reserva fisiológica y el criterio del propio clínico. El personal clínico debe basar su actuación en base a los hallazgos del examen físico, la evolución en la tendencia de los parámetros monitorizados así como los hallazgos analíticos y de las pruebas diagnósticas realizadas. La combinación adecuada de información subjetiva y objetiva proporcionada por el paciente permite al clínico definir un plan diario de diagnóstico, terapia y seguimiento (básico o avanzado) que será específico para cada paciente.

El plan de monitorización debe evaluar los principales sistemas: respiratorio, cardiovascular, neurológico, renal y digestivo. Además, debe establecer también la periodicidad y la prioridad en la evaluación de los parámetros físicos o analíticos seleccionados. El uso de listas

de verificación (*checklist*) permite aumentar la eficacia de la monitorización.⁸⁵ Una de las más utilizadas en medicina intensiva de pequeños animales, que se ha desarrollado para pacientes con SIRS o sepsis, es la regla "de los 20"⁸⁶ (Apéndice 1)

2.2.1. Monitorización de la albúmina en el paciente crítico.

La albúmina es uno de los parámetros de esta lista de verificación diaria. El compromiso en la síntesis, las pérdidas asociadas y las consecuencias circulatorias de la hipoalbuminemia hacen que se recomiende monitorizar, al menos, una vez al día la proteinemia y/o albuminemia. En el paciente crítico se recomienda mantener la concentración plasmática de albúmina por encima de 2 g/dL.¹⁸ Considerando la ubicuidad de la albúmina y sus múltiples implicaciones a nivel funcional en el organismo, el manejo de la hipoalbuminemia debe centrarse en el tratamiento de la enfermedad subyacente o causal, el soporte nutricional, la farmacoterapia, la prevención de los fenómenos tromboembólicos y el soporte coloidal.

Aunque la terapia específica con albúmina podría ser eficaz en el manejo de enfermedades complicadas (p.e. sepsis) su utilización ofrece resultados contradictorios atendiendo a la bibliografía existente.^{87,88} En medicina veterinaria, la terapia específica de reemplazo con albúmina se recomienda en pacientes con manifestaciones clínicas de hipoalbuminemia (p.e. presencia de derrames, edema, e hipotensión) o cuando se requiere para mantener la albuminemia entre 1,5-2 g/dL.²⁸

Mantener la concentración de albúmina plasmática en los valores descritos con anterioridad puede resultar complejo en el paciente crítico. La inflamación sistémica altera la permeabilidad capilar, genera inestabilidad hemodinámica, condiciona la aparición de fenómenos de hipoperfusión y provoca disfunción orgánica a nivel gastrointestinal y renal.^{15,48,49,90}

3. Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)/sepsis: definición e implicaciones clínicas

3.1. Definición:

El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) se define como el conjunto de fenómenos clínicos y fisiológicos que resultan de la activación general del sistema inmune y la respuesta inflamatoria asociada, con independencia de la causa que lo origina. Así pues, el SIRS puede presentarse asociado a infección (vímica, bacteriana, protozoaria o fúngica) o inflamación no infecciosa (pancreatitis, politraumatismo, neoplasia, enfermedad inmunomediadas o golpe de calor). Cuando el paciente presenta signos de SIRS y hay infección, el fenómeno recibe el nombre de sepsis.

La terminología para describir el fenómeno séptico, en la bibliografía médica, atiende al consenso de 1992 del *American College of Chest Physicians (ACCP)* y la *Society of Critical Care Medicine (SCCM)*. La sepsis grave se puede definir como el síndrome clínico de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) asociado a infección (bacteriana, vírica, fúngica o protozoaria) que cursa con disfunción aguda de un órgano, hipoperfusión o hipotensión.

3.2. Incidencia del SIRS/sepsis en el paciente crítico.

En la actualidad, la sepsis constituye un problema emergente de salud cuya incidencia es cada vez mayor en el ámbito del paciente crítico. Se han descrito prevalencias entre un 5% y un 19% del total de las admisiones en UCI.⁹¹⁻⁹⁴ Las tasas de incidencia durante las primeras 24 h de admisión, son de hasta 300 nuevos casos/100.000 habitantes/año.⁹³

A pesar de ser también un síndrome frecuente en la clínica veterinaria de pequeños animales, las referencias bibliográficas relativas a la incidencia del SIRS o sepsis en medicina veterinaria son escasas. Según un estudio realizado en la Universidad de Pensilvania, en un periodo de 10

años (1988-1998) la incidencia de perros con sepsis había pasado de 1/1000 a 3,5/1000 casos hospitalizados. La sepsis constituye un desafío tanto diagnóstico como terapéutico para el clínico intensivista y sus tasas de mortalidad son similares a las descritas en medicina humana.

3.3. Riesgo de letalidad asociada al SIRS/sepsis en el paciente crítico.

Existe una fuerte correlación entre la gravedad de la disfunción orgánica del paciente en SIRS/sepsis durante su admisión a la UCI y la tasa de supervivencia. También entre el número de órganos o sistemas orgánicos afectados y la mortalidad. Aunque la patogenia del daño orgánico sea multifactorial, y no definida por completo, la hipoperfusión, la hipoxia tisular y la inadecuación de la respuesta inflamatoria del propio paciente parecen tener un papel predominante en la morbilidad y mortalidad finales asociadas a tal proceso. De hecho, en medicina humana la sepsis grave es la primera causa de muerte, no coronaria, en la UCI,^{95,96} y las tasas de mortalidad oscilan entre el 20% y el 68%.⁹⁷ La progresión desfavorable del fenómeno séptico a fases avanzadas define la aparición del choque séptico refractario y el síndrome de disfunción orgánica múltiple. Las tasas de mortalidad en perros sépticos se han estimado entre el 33% y el 50%.⁹⁸⁻¹⁰¹

3.4. Evaluación, monitorización y aspectos pronósticos del SIRS/sepsis en el paciente crítico.

En 2013, *The Surviving Sepsis Guidelines Committee* publicó toda una relación de recomendaciones clínicas para el reconocimiento y manejo del paciente en sepsis severa o choque séptico, atendiendo a las pruebas clínicas disponibles.¹⁰²

Según estas recomendaciones, los criterios diagnósticos de sepsis en estos pacientes, requieren de la documentación o sospecha de infección, variables generales, inflamatorias, hemodinámicas, de función orgánica y finalmente variables de perfusión tisular. La hipoalbuminemia es frecuente en este tipo de pacientes y puede influir en las mismas. A modo de ejemplo, se consideran como variables generales el edema y el balance de fluidos

neto (>20 ml/kg en 24h); como variables inflamatorias el aumento significativo (dos desviaciones estándar) de la concentración sérica de proteína C-reactiva; como variables hemodinámicas la hipotensión arterial sistémica (PAS <90mmHg, PAM<70 mmHg o disminución de la PAS en >40 mmHg); como variables de disfunción orgánica el íleo intestinal; y como variables relativas a la perfusión tisular, la hiperlactatemia (>1 mmol/L) y las alteraciones de la microcirculación.

Entre las recomendaciones de la *Survival Sepsis Campaign* para el manejo de pacientes con sepsis severa o choque séptico cabe destacar, por su alto grado de evidencia científica, la resucitación temprana con fluidos cristaloides en las siguientes 6h a la admisión, la realización de hemocultivos previos al inicio de la antibioterapia, la realización de pruebas de diagnóstico por imagen para la localización del foco infeccioso, la administración empírica de antibioterapia de amplio espectro en 1h tras la admisión, la eliminación del foco infeccioso en las 12h y la reevaluación cada 24h de la antibioterapia. Aunque el grado de evidencia científica sea menor (B), también se recomienda la terapia de reemplazo específica con albúmina cuando en este tipo de paciente requiera cantidades importantes de cristaloides para mantener una presión arterial media adecuada.

Así, en el manejo del paciente séptico se requiere un abordaje precoz del fenómeno inflamatorio y la caracterización de la reacción de fase aguda asociada. En 2001, la *International Sepsis Definitions Conference*¹⁰³ presentó el modelo *PIRO* para la gradación del fenómeno séptico. Este es un modelo conceptual de clasificación en el que diferentes variables demográficas, clínicas, biológicas y laboratoriales se utilizan para clasificar pacientes sépticos en categorías con diferentes tasas de morbilidad y mortalidad. En este modelo, el acrónimo *PIRO* engloba el concepto: (P) Predisposición: genética, edad, co-morbilidad, (I) Noxa o Infección: naturaleza y extensión, (R) Respuesta: naturaleza y magnitud en el enfermo, (O) Disfunción orgánica: número y grado de afectación.

Aunque el modelo PIRO se diseñó para caracterizar el proceso séptico en la clínica, puede utilizarse también para caracterizar el SIRS y la propia reacción de fase aguda. Comprende cualquier etiología o noxa que pueda desencadenar la respuesta inflamatoria sistémica en el paciente hospitalizado. La mayoría de los marcadores de reacción de fase aguda se aplican para valorar la respuesta individual a la causa y a cuantificar la condición pro-inflamatoria del paciente según la respuesta leucocitaria, la cuantificación de citoquinas y los cambios fisiopatológicos asociados (como la síntesis hepática de proteínas de fase aguda).¹⁰⁴

La utilización de biomarcadores para caracterizar el tipo y grado de disfunción orgánica inducida por la inflamación se ha establecido para los diferentes sistemas orgánicos y se ha incluido en la elaboración de índices de supervivencia para pacientes críticos en la UCI, tales como el APPLE¹⁰⁵ o el SPI2.¹⁰⁶ Estos sistemas de puntuación se basan en variables clínicas (analíticas, paramétricas, físicas y diagnósticas) que permiten predecir el riesgo de mortalidad asociada, establecer una base objetiva para el *triage* y el análisis de riesgos de estos pacientes. Sin embargo, su uso fuera del ámbito de investigación, en la clínica veterinaria, no es habitual.

Por el momento hay pocos biomarcadores que permitan evaluar y cuantificar de forma adecuada la respuesta inflamatoria del paciente en veterinaria. En el ámbito de la medicina intensiva veterinaria, el biomarcador ideal debería poder determinarse con rapidez y economía, mediante un procedimiento a poder ser no invasivo y, a ser posible, a partir de muestras biológicas de fácil obtención (sangre, orina). Debería idealmente tratarse de un marcador con alta sensibilidad y especificidad para poder clasificar el paciente en función de la gravedad del proceso patológico subyacente y monitorizar la respuesta del paciente a la terapia.

La albúmina es un biomarcador de inflamación sistémica cuya determinación es rutinaria y habitual en el paciente crítico. Además su valor pronóstico está refrendado en los índices de supervivencia publicados y previamente mencionados.

Hipótesis

Hipótesis

1. La interpretación de los desequilibrios ácido-base puede llevarse a cabo en el paciente canino crítico e hipoalbuminémico utilizando el modelo cuantitativo o de iones fuertes de Stewart.
2. La hipoalbuminemia condiciona la interpretación de los desequilibrios ácido-base presentes en el paciente canino crítico independientemente del método de evaluación utilizado.
3. La interpretación mediante el modelo cuantitativo permite caracterizar diferentes tipologías de desequilibrios ácido-base atendiendo a la etiología o categoría particular de enfermedad que presenta el paciente canino crítico e hipoalbuminémico.
4. La interpretación de los desequilibrios ácido/base presentes en el paciente canino crítico afectado de SIRS/sepsis puede ser diferente atendiendo al método utilizado y puede presentar una tipología de desequilibrios ácido-base característica.
5. La albúmina es un buen marcador de inflamación en el paciente canino con SIRS/sepsis y puede mostrar correlación con otros biomarcadores o reactantes de fase aguda.
6. La albúmina y otros reactantes de fase aguda pueden ofrecer información pronóstica en pacientes caninos afectados de SIRS/sepsis.

Objetivos

Objetivos

1. Determinar si existe correlación entre los dos métodos de interpretación del equilibrio ácido-base en los animales objeto de estudio.
2. Determinar qué desequilibrio ácido-base presentan los pacientes caninos críticos e hipoalbuminémicos según cada método de evaluación.
3. Determinar si los desequilibrios ácido-base detectados en la población estudiada dependen de la hipoalbuminemia y/o de la enfermedad subyacente.
4. Determinar qué método de interpretación del equilibrio ácido-base es más adecuado o tiene mayor utilidad clínica.
5. Determinar qué biomarcador o reactante de fase aguda (albúmina, hierro, fibrinógeno y CRP) es más adecuado en pacientes caninos críticos afectados de SIRS/sepsis.
6. Determinar si alguno de los biomarcadores estudiados tiene valor predictivo o pronóstico en el paciente canino afectado de SIRS/sepsis.

Estudios publicados

Estudio 1:

A comparison of traditional and quantitative analysis of acid-base imbalances in hypoalbuminemic dogs.

Assumpto: Journal of Veterinary Emergency and Critical Care

De: dchan@rvc.ac.uk

Data: 07/11/2013 21:20

A: Carlos.Torrente@uab.cat

CC: djf42@cornell.edu

07-Nov-2013

JVECC-12-12-0010.R3 - A comparison of traditional and quantitative analysis of acid-base and electrolytic imbalances in hypoalbuminemic dogs

Dear Mr. Torrente:

I'm pleased to inform you that your manuscript has completed the peer review process and has been recommended for publication by the editors. Your manuscript is now queued for final editing. Please expect to receive my final editorial revisions in the coming months.

The publisher is now issuing a new copyright transfer agreement which will be sent to the corresponding author following the final edited version of the manuscript.

Thank you for your fine contribution and congratulations.

Sincerely,

Daniel L. Chan, DVM, DACVECC, DACVN, MRCVS
Editor-in-Chief
Journal of Veterinary Emergency and Critical Care

Running title: Acid-base and electrolytes in hypoalbuminemic dogs

A comparison of traditional and quantitative analysis of acid-base imbalances in hypoalbuminemic dogs

Torrente C^{1,3} DVM MSc, Manzanilla EG² DVM PhD MPVM DECPHM, Ruiz de Gopegui R³ DVM, PhD, DECVIM

1. Servei d'Emergències i Cures Intensives FHCV-UAB.
2. Departament de Ciència Animal i dels Aliments.
3. Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Facultat de Veterinària de la UAB.
Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

The authors declare no conflicts of interest.

Address correspondence and reprint requests to

Carlos Torrente Artero, Servei d'Emergències i Cures Intensives de la Fundació Hospital Clínic Veterinari de la UAB i Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, UAB, 08193, Bellaterra, Barcelona, Spain

Email: Carlos.Torrente@uab.cat

Abstract

Objective -To compare the traditional (HH) and quantitative approaches used for the evaluation of the acid-base balance in hypoalbuminemic dogs.

Design - Prospective observational study of sequentially enrolled dogs.

Setting - ICU of a Veterinary Teaching Hospital.

Animals - One-hundred and five client-owned dogs.

Measurements and Main Results - Jugular venous-blood samples were collected from each patient on admission to determine: total plasma protein (TP), albumin (Alb), blood urea nitrogen (BUN), glucose (Glu), hematocrit (HCT), Na^+ , Cl^- , K^+ , phosphate (P_i), pH, pvCO_2 , bicarbonate (HCO_3^-), anion gap (AG), adjusted anion gap for albumin (AG_{alb}) and/or phosphate ($\text{AG}_{\text{alb-phos}}$), standardized base excess (SBE), strong ion difference (SID), concentration of non-volatile weak buffers (A_{tot}), and strong ion gap (SIG). Patients were divided in two groups according to the severity of the hypoalbuminemia: mild (Alb = 2.1-2.5 g/dL) and severe (Alb \leq 2.0 g/dL). All parameters were compared among groups. Patients with severe hypoalbuminemia showed significant decrease in TP ($P = 0.011$), A_{tot} ($P = 0.050$) and a significant increase in adjusted AG ($P = 0.048$) and the magnitude of SIG ($P = 0.011$) compared to animals with mild hypoalbuminemia.

According to the HH approach most frequent imbalances were simple disorders (51.4%) mainly metabolic acidosis (84.7%), in most cases associated to a high AG acidosis. However, when using the quantitative method 58.1% were complex disorders, and SIG acidosis (74.3%) and A_{tot} alkalosis (33.3%) were the most frequent acid-base imbalances. The interpretation between methods only matched in 32 cases ($\text{kappa} < 0.20$).

Conclusions - The agreement between the HH and quantitative methods for interpretation of acid-base balance was poor and many imbalances detected using the quantitative approach

would remain undetected using the HH approach. Besides this, further studies are necessary to confirm the higher clinical utility in the decision-making process on the severely ill hypoalbuminemic patient.

Key words: albumin, anion gap, metabolic acidosis, strong ion gap

Abbreviations

AG	Anion gap
AG _{alb}	Adjusted anion gap for albumin
AG _{alb-phos}	Adjusted anion gap for albumin and phosphate
A _{tot}	Concentration of non-volatile weak buffers
Glu	Glucose
HCO ₃ ⁻	Bicarbonate
HH	Henderson-Hasselbach or traditional approach
SBE	Standardized base excess
SID	Strong ion difference
SIG	Strong ion gap
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
TP	Total plasma protein

Introduction

Acid-base disturbances and electrolyte disorders have been reported in the veterinary literature concerning the field of the small animal intensive care.¹⁻⁵ Such disorders have diagnostic, therapeutic, and prognostic implications in terms of morbidity and mortality, both in small animal^{6,7} and human medicine.⁸⁻¹² Thus, a proper assessment, monitoring, and guided treatment of these disorders may be important for an effective management of critically ill patients. Different approaches to acid-base analysis have been developed, such as the traditional and the quantitative approaches. The traditional (HH) approach is based on the Henderson-Hasselbach equation and uses pH, partial pressure of carbon dioxide, bicarbonate (HCO_3^-), base excess, and anion gap (AG), and the quantitative approach or simplified strong ion model¹³ uses pH, pCO_2 , strong ion difference (SID), total concentration of weak acids (A_{tot}), and strong ion gap (SIG).

The HH approach describes the blood pH as the result of a respiratory component, represented by pCO_2 , and a metabolic component, expressed by HCO_3^- concentration using the following formula: $\text{pH} = 6.11 + \log ([\text{HCO}_3^-] / (0.03 \times \text{pCO}_2))$.¹⁴ This approach indicates which system is responsible for the initial change in pH and identifies four primary acid-base abnormalities: respiratory acidosis or alkalosis, and metabolic acidosis or alkalosis. When only one of these components is primary altered it is called a simple acid-base disorder and the other component is expected to react in order to compensate pH variations to some extent. This compensation can be calculated.³ When compensation does not happen as expected, more than one component may be altered and it is called mixed acid-base disorder. The HH approach further characterizes the metabolic disturbances by the AG calculation to detect an increase in the concentration of unmeasured anions. Normally, the AG is made up of the net negative charge on sulfates, phosphates, plasma proteins, and organic anions (e.g. lactate, citrate, etc.). Thus, metabolic acidosis is categorized as either associated with a high AG or a

normal AG. High AG is due to a gain of acid with its associated anion while normal AG acidosis occurs from retention of protons or loss of HCO_3^- with associated increases in plasma chloride concentration. Although the HH approach recognizes respiratory and metabolic abnormalities, both components are not completely independent of each other and some aspects of the metabolic component remain uncharacterized. Thus, this approach may fail to describe underlying mechanisms why pH varies when patients have abnormal albumin, globulin, or hemoglobin concentrations which are frequent findings in critically ill dogs.^{13,15,16}

The quantitative approach uses three independent variables (pvcO_2 , SID, and A_{tot}) to describe acid-base balance. The respiratory component is described by pCO_2 as for the HH approach and the metabolic component is characterized by SID and A_{tot} . The SID is the difference in charge between fully dissociated and therefore non-reactive or non-buffering strong cations (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) and strong anions (Cl^- , lactate, β -hydroxybutyrate, acetoacetate, and SO_4^-) at physiologic pH.¹⁷ In practice, changes of SID occur mainly associated to change in Na^+ and Cl^- concentrations. A decrease in SID causes the formation of strong ion acidosis, whereas an increase in SID causes strong ion alkalosis.^{18,19} The A_{tot} is the total plasma concentration of nonvolatile buffers or weak acids such as albumin, globulins, and phosphate²⁰ and its variation results in nonvolatile buffer ion acidosis or alkalosis. Thus, the strong ion approach characterizes 6 primary acid-base disturbances (i.e. respiratory acidosis and alkalosis, strong ion acidosis and alkalosis, nonvolatile buffer ion acidosis and alkalosis). Finally, the unmeasured strong anion concentration is quantified by calculating the SIG. This is an apparent difference between all unmeasured strong cations and anions. The SIG concept incorporates the impact of changes in albumin and phosphorus concentration but also the effect of other strong ion concentrations not included in the AG formula.^{21,22} Thus, when albumin is low the AG may not allow identification of unmeasured anions that SIG calculation would identify.

The simplified strong ion model offers a quantitative in depth insight into the pathophysiology of acid-base disorders that could enable the development of a treatment plan more specifically tailored to the patient's problem. However, it is still a controversial for some authors,²³ is a more time consuming method, and could be therefore less convenient in daily practice.²⁴ The quantitative approach has been evaluated in human ICU patients²⁵⁻²⁷ and reported anecdotally as an alternative method in veterinary medicine for horses,²⁸ pigs,²⁹ calves³⁰ and dogs.³¹⁻³³ To date there are no studies comparing the quantitative and traditional assessments of acid-base analyses in critically ill dogs. Based on the high incidence of acid-base disturbances and hypoalbuminemia in the critically ill patient, the implementation of a method that takes into account this abnormality would permit to evaluate more adequately the acid-base imbalances of such population. Therefore, the purpose of this study was to compare the interpretation of acid-base imbalances using the traditional and the quantitative approaches in hypoalbuminemic dogs admitted to an ICU.

Materials and Methods

Animals

This prospective observational study was performed at the Intensive Care Unit of a Veterinary Teaching Hospital. Medical records of dogs admitted between February 2006 and January 2008 were enrolled in the study. To qualify for inclusion, dogs had to document hypoalbuminemia on admission (albumin <2.5 g/dL) and absence of any previous therapy with natural or synthetic colloids. Dogs that fulfilled the inclusion criteria were included in the study for further evaluation. At the time of admission signs and symptoms, clinical and laboratory data were collected and scheduled. In all included patients, the final diagnosis and the etiology of hypoalbuminemia could be established based on clinical and the biochemical data performed. Further clinical patient classification in two groups was based on the severity of

hypoalbuminemia. Group 1 included patients with albumin concentrations ≤ 2.0 g/dL (severe hypoalbuminemia) and Group 2 included patients with albumin concentrations between 2.1-2.5 g/dL (mild hypoalbuminemia).

In order to establish reference ranges for all the parameters described above, 135 clinically healthy dogs were selected as control animals. These dogs were considered to be clinically sound based on physical examination and blood chemistry. The group included 27 regular blood donors, and 108 dogs undergoing minor or preventive major surgery (neutering).

Sampling, processing and analysis

Upon admission, samples were collected in a standard fashion before treatment was administered in hypoalbuminemic dogs and during routine physical exam just prior to the blood donation/surgical procedure in healthy dogs. Venous bloods were collected by venipuncture of the jugular vein into 2.5 mL lithium heparinized-anticoagulant tubes for biochemistry testing. Samples were centrifuged at 1,200 g for 15 minutes to obtain plasma. Plasma was then frozen at -20°C for further analysis. Parameters determined in frozen plasma samples were: total plasma protein (TP), plasma concentrations of albumin (Alb), inorganic phosphate (P_i), glucose (Glu), and blood-urea nitrogen. These parameters were measured using an automated chemistry analyzer and standard colorimetric assays^a.

Another venous blood sample was collected anaerobically from the other jugular vein into a 1-mL heparin-flushed polypropylene syringe^b. The manual heparinization of the syringe was performed with 1000 unit/mL of sodium heparin and after coating the barrel of the syringe, the excess heparin was forcefully expelled several times before the blood collection. Finally the syringe was filled with 0.9 ml of blood. Immediately after collection, blood gas analysis was performed using an automated portable blood gas analyzer^c to determine pH, venous partial pressure of CO_2 , sodium [Na^+], potassium [K^+] and chloride [Cl^-] concentrations.

Calculated parameters

Bicarbonate [HCO_3^-] and Standardized Base Excess (SBE) were calculated by the analyzer using the Henderson-Hasselbach formula in conjunction with the Siggaard-Anderson equation and Van Slyke equations, respectively. The SBE equation used was recommended by Clinical laboratory –Standards Institute (C46-A).³⁴ Traditional analysis was completed calculating the anion gap ($\text{AG} = \text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^- - \text{HCO}_3^-$). The anion gap was adjusted for albumin (AG_{alb}) in all cases and also adjusted for phosphates ($\text{AG}_{\text{alb-phos}}$) in cases presenting hyperphosphatemia. The described parameters were calculated using the following formulas:³⁵

- Anion gap adjusted for albumin

$$\text{AG}_{\text{alb}} = \text{AG} + 0.42 \times [3.77 - (\text{Alb})]$$

- Anion gap adjusted for albumin-phosphate

$$\text{AG}_{\text{alb-phos}} = \text{AG}_{\text{alb}} + [2.52 - 0.58 \times (\text{P}_i)]$$

where AG is measured in mEq/L, Alb is measured in g/dL, and P_i in mg/dL.

Quantitative analysis of acid-base balance was assessed using the method described by Stewart³⁶ and simplified by Constable.¹³ The SID, A_{tot} and SIG, were calculated using the following formulas:

- Strong ion difference (SID):³⁷

$$\text{SID} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{Cl}^-$$

- Total a concentration of nonvolatile weak buffers:³⁵

$$\text{A}_{\text{tot}} = [\text{TP}] \times 0.27$$

where A_{tot} is calculated based on the TP concentration in g/L and whereas the effective dissociation constant (K_a) for plasma nonvolatile buffers is 0.17×10^{-7} ($\text{pK}_a = 7.77$)

- Strong ion gap (SIG):³⁵

$$\text{SIG} = [\text{Alb}] \times (0.348 + 0.469 / \{1 + 10^{(7.77 - \text{pH})}\}) - \text{AG}$$

where SIG and AG are measured in mEq/L and Alb is measured in g/L.

Acid-Base Imbalances

Interpretation of acid-base status was performed on every patient using the traditional approach and the quantitative strong ion difference based analysis. Based on the HH approach, the parameters taken into account were pH, pvCO_2 , HCO_3^- , SBE, and AG_{alb} or $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$. Acid-base disorders were classified by this method using the criteria given by de Morais and Di Bartola.³⁸ The 4 acid-base disturbances described were: respiratory alkalosis or acidosis, and metabolic alkalosis or acidosis. Briefly, respiratory acidosis was identified when pvCO_2 was above the reference range and the pH was lower than normal, and respiratory alkalosis when pvCO_2 was below and pH above the reference range, respectively. Simple respiratory disorders were diagnosed when the compensatory changes in the HCO_3^- were within the range predicted by the compensatory calculations. Metabolic acidosis was identified when HCO_3^- and/or SBE values were below the reference range and the pH was lower than normal, and metabolic alkalosis when HCO_3^- and/or SBE values were above the reference range and pH above the reference range. Simple metabolic disorders were diagnosed when compensatory changes in pvCO_2 were within the expected range. Mixed disturbances were diagnosed in cases when the compensatory calculations or values in the secondary system were not within the expected range. Patients showing alterations in the respiratory and/or metabolic component and a normal pH were also considered for evaluation of a possible compensated simple disorder or a mixed imbalance.

Patients with metabolic acidosis were further characterized considering the adjusted AG to characterize the presence of high-AG acidosis, that is, acidosis associated with an

increased concentration of unmeasured anions. In addition, all patients showing no alterations in the metabolic parameters described above, but showing a normal or low pH in combination with a high AG_{alb} or $AG_{alb-phos}$ were included in the group of patients with metabolic acidosis.

Based on the quantitative approach the patients were classified by: pH, $pVCO_2$, SID, A_{tot} , and SIG. The respiratory imbalances were classified according to the method previously described in the traditional approach.³⁹ Concerning metabolic imbalances, dogs were diagnosed with the following acid-base situations: metabolic acidosis when SID values were below the reference range and/or A_{tot} concentration was above the reference range; metabolic alkalosis when SID values were above the reference range and/or A_{tot} concentration was below the reference range. The SIG value was determined in every patient to estimate the effect of unmeasured strong anions in the acid-base imbalance according to the strong ion approach. In addition, all patients showing a normal or low pH in combination with only a high SIG were included in the group of patients with strong ion gap acidosis.

Statistical Analysis

All data were analyzed using SAS 9.2^d. Descriptive parameters and normality tests were done using the Univariate Procedure. All dependent variables (Na^+ , K^+ , Cl^- , Alb, TP, P_i , pH, $pVCO_2$, HCO_3^- , SBE, AG, SID, A_{tot} , SIG) were compared between control group and hypoalbuminemic groups using one way ANOVA. Multiple pair-wise comparisons were obtained using Tukey's correction. Reference values for comparisons were calculated as mean \pm 1.96 standard deviations for healthy dogs. All reported values were presented as mean \pm SD. Agreement between methods was studied using Kappa coefficient. Alpha level used for determination of significance was set at 0.05.

Results

One hundred and five hypoalbuminemic dogs were included in the study, 45 females (42.8%) and 60 males (57.2%), with an average age of 6 years (from 6 months to 15 years). According to the severity of the hypoalbuminemia, 58 patients (55.2%) were included in the group with mild hypoalbuminemia (Alb = 2.1-2.5 g/dL) and 47 dogs (44.8%) in the group of severe hypoalbuminemia (Alb \leq 2.0 g/dL). All patients included in the study were additionally classified according to its disease as being patients with SIRS/sepsis 36/105 (34.3%), hepatic diseases 8/105 (7.6%), renal diseases 25/105 (23.8%), gastrointestinal diseases 15/105 (14.3%), or endocrine disorders 21/105 (20%). The control group was formed by healthy adult dogs, 82 males (61%) and 53 females (39%) with an average age of 5 years (from 2 to 8).

Mean values of the studied parameters for control, mild, and severe hypoalbuminemic dogs are given in Table 1. Both, mild, and severe hypoalbuminemic dogs showed a significant decrease in Alb, TP, pH, HCO_3^- , SBE, SIG, and A_{tot} , and a significant increase in AG, AG_{alb} , and $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$ compared to control dogs ($P < 0.001$ in all cases). Dogs affected by severe hypoalbuminemia also presented lower K^+ ($P = 0.048$), and P_i ($P < 0.01$) concentrations when compared to control. Finally, dogs affected by mild hypoalbuminemia, but not those affected by severe hypoalbuminemia, showed higher Na^+ ($P = 0.034$), and Cl^- ($P = 0.050$) concentrations than control animals. There were no significant differences between groups in pvCO_2 concentrations and SID values. According to the severity of the hypoalbuminemia, patients with severe hypoalbuminemia showed significant decrease in plasma total protein ($P = 0.011$), A_{tot} concentrations ($P = 0.050$), and SIG ($P = 0.011$), and a significant increase in adjusted AG ($P = 0.048$) compared to animals with mild hypoalbuminemia.

All 105 blood gas determinations performed in this study were evaluated using both methods of acid-base assessment. The interpretation of acid-base balance of each dog on admission is showed in Table 2. These results showed poor agreement ($\text{kappa} < 0.20$) between

the traditional and quantitative approaches because only 32 cases matched. Using a traditional approach, 95/105 (90%) determinations of acid-base status presented detectable alterations characterized in most cases as simple acid-base disorders (49 metabolic acidosis, 2 respiratory acidosis, 2 respiratory alkalosis, and 1 metabolic alkalosis). The remaining 41 of these 95 had mixed imbalances: 24 had a combination of metabolic acidosis and respiratory acidosis, 12 respiratory alkalosis and metabolic acidosis, 4 metabolic acidosis and alkalosis, and 1 respiratory and metabolic alkalosis. Thus, using the traditional approach metabolic acidosis was detected in 89 patients (84.7%) as a simple acid-base disorder or as a component of a mixed disturbance. In 76/89 (85.4%) this metabolic imbalance was associated to an elevated adjusted AG but in 13 dogs simultaneous hyperchloremic metabolic acidosis was detected.

Using a quantitative evaluation of acid-base balance, 94/105 (89%) blood gas analysis presented alterations of which 33 were considered simple metabolic disorders: 25 SIG acidosis, 4 SID acidosis, 2 SID alkalosis, and 1 A_{tot} alkalosis. The remaining 61 of these 105 analyses showed complex acid base disturbances: 20 A_{tot} alkalosis and SIG acidosis, 14 respiratory alkalosis associated to any of the previous mentioned disorders, and many other mixed disorders in low counts (Table 2).

Discussion

Hypoalbuminemia is a common finding in critically ill dogs.⁴⁰ Albumin is a weak acid that can affect pH value⁴¹⁻⁴³ and is considered a major buffer of the extravascular compartment. Consequently albumin plays a key role in the metabolic component of the acid-base imbalance, but is not taken into account in the traditional approach.^{44,45} Thus, the use of the traditional approach may lead to diagnostic errors in hypoalbuminemic dogs but it is widely used in canine plasma because it is easy to interpret and does not require determination a large number of parameters or complex calculations. The main goal of this

study was to compare the traditional and the quantitative approaches for the assessment of acid-base imbalances in hypoalbuminemic dogs.

When hypoalbuminemic patients were compared to control dogs clear differences were detected in the metabolic component of the acid-base balance. In particular, hypoalbuminemic dogs compared to control dogs showed lower pH combined with, lower HCO_3 and higher AG when the traditional approach was used, and lower A_{tot} and SIG when the quantitative method was used. The respiratory component represented by $p\text{vCO}_2$ values showed no differences between hypoalbuminemic and control dogs and only 15 dogs (14.3%) showed secondary respiratory alkalosis mainly as compensation to organic or hyperchloremic acidosis. The incidence of respiratory alkalosis in critically ill patients is controversial in human medicine.^{46,47} In this sense, our findings agree with those by Rossing et al.⁴⁶ where hypocapnia or hyperventilation was observed in patients with hypoalbuminemia. The traditional acid-base method offers the possibility of calculating compensation, however, estimating compensatory processes in groups like critical patients with different simultaneous acid-base imbalances can be a difficult task. To date there are no studies in veterinary medicine regarding the phenomena of compensation in cases of hypoproteinemic alkalosis.

Decreased pH was expected in many critically ill patients from the previously reported association of metabolic acidosis and illness in ICU patients.⁴⁸ Using the traditional approach the most consistent alterations found in this study were simple primary metabolic acidosis associated with a high AG (organic acidosis). This finding agrees with those by Hopper et al.⁵ where primary metabolic acidosis was the most common disorder identified in ill dogs. The degree of change in pH varied depending on compensation and the presence of complex disorders, as shown by the results of this study. In fact, the pH value was within the reference range in 48 dogs (45.7%) despite the presence of substantial acid-base disturbances. Thus, pH alone cannot be utilized to determine the severity and nature of an acid base disorder.

In the traditional approach, HCO_3^- or SBE, quantify the metabolic component of acid-base determinations however this approach has been criticized because HCO_3^- is not independent of changes in the pCO_2 .^{49,50} For this reason, we used also the SBE to identify patients with metabolic acidosis in this study, regardless of concurrent pH, an approach that has been used previously.⁵¹⁻⁵³ Calculation of the AG can help determining the underlying cause of metabolic acidosis. In the traditional approach, AG is used as indirect evidence of increased unmeasured anions in patients with metabolic acidosis. Normal AG is largely a result of the charge on albumin, particularly in the dog.^{35,54} Thus, observed AG may fail to detect increased concentrations of lactate or unmeasured anions, such as ketones, pyruvate, sulfate, and others, if serum albumin concentration is low.^{42,55} This finding lead previous authors to propose and adjusted equation in cases of hypoalbuminemia.⁵⁶⁻⁵⁹ An interesting finding in this study was that twenty-one patients were considered not to have any acid-base imbalance according to the values obtained for the pH, pVCO_2 , SBE, and AG parameters. The calculation of the adjusted AG (AG_{alb} or $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$) enabled us to identify the presence of high AG acidosis in 78 hypoalbuminemic dogs. When AG_{alb} or $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$ was calculated, 10 patients (9.5%) were considered free of any acid-base imbalance according to the traditional approach.

The quantitative approach has, in theory, advantages for the evaluation of critically ill dogs because it allows interpretation of acid-base equilibrium, especially when electrolytes, albumin, and/or phosphorus concentrations are altered. The first variable in the quantitative approach, SID can change mainly due to variations in the free water content of plasma, changes in chloride concentration, and increases in the concentration of other strong anions. Therefore, the role of SID on pH offers an understanding of clinical conditions like dilution acidosis, concentration alkalosis, hyperchloremic acidosis, hypochloremic alkalosis, and acidosis from unidentified anions (SIG).⁵⁵ However, in the clinical setting accurate measurements of SID are difficult to obtain in plasma samples because of the presence of unknown strong anions,²⁵ differences in equipment and/or methodology used to measure

strong ion concentrations,⁶⁰ and different methods of calculation described in the literature.^{42,61} In spite of this limitations, assuming that in extracellular fluids, Na⁺ and Cl⁻ are the major strong ions present, SID may be normally close to ([Na⁺] - [Cl⁻]). In body fluids, SID is on the order of +40 mEq/L⁶² and similar values for dogs have been reported in the veterinary literature.³⁵ In the present study, the mean values of SID for control animals were lower than previous published reference ranges, probably due to the chloride concentrations reported by the portable analyzer used in the study. However, no differences were found between control and hypoalbuminemic dogs.

The second variable in the quantitative approach, A_{tot} , is affected mainly by changes in plasma albumin and in lesser amount by the phosphate or globulin concentrations.³⁵ The total concentration of plasma non-volatile buffers and their effective dissociation constant (K_a) has been reported experimentally for canine plasma,³⁵ based on albumin or total protein concentration. Considering the latest and according to our results, control dogs showed values close to the reference range previously reported in the veterinary literature.³⁵ In the hypoalbuminemic patients, A_{tot} values were significantly different and proportionally lower according to the severity of hypoalbuminemia. Hypoproteinemic alkalosis is a common finding in the human ICU patient.⁵⁸ However, in our study the number of patients with A_{tot} alkalosis was moderate (35; 33.3%) and many patients showed normal values for A_{tot} despite hypoalbuminemia. The presence of hyperglobulinemia associated to infectious, neoplastic, or immunomediated diseases in the patients submitted to study might have compensated the expected alkalosis associated to the degree of hypoalbuminemia, especially in patients with kidney disease.⁶³ In humans, there are some other formulas for A_{tot} calculation that include the phosphate effect, but in our study and according to the formula we used the impact of hyperphosphatemia in A_{tot} , specially in such group of patients, couldn't be assessed. In any case, in the present study the A_{tot} determination allowed identification of metabolic alkalosis processes that otherwise had not been identified by the traditional approach (33.3% vs. 5.7%).

Although the group with severe hypoalbuminemia showed the lowest A_{tot} , the mean pH value was the lowest in that group. This was probably due to the high percentage of patients with simultaneous SIG acidosis (27/33; 81.8%). Similar results have been described in human beings where hypoalbuminemia has been reported as common cause of alkalosis in critically ill patients in spite of simultaneous SIG acidosis.^{58,64}

The SIG determination provides an estimate for the difference between the unmeasured strong anion charge and unmeasured strong cation charge. Similarly to SID, many different methods of calculation and consequently reference ranges have been reported in the literature.^{35,65} In the present study, SIG was calculated using an equation based on canine values for A_{tot} and K_a , and the values we found in control dogs were higher than the SIG range of -5.0 to 5.4 mEq/L reported by Constable et al.³⁵ A possible explanation for this finding could be related to the analyzer used in the study. According to the obtained values in the AG and SIG for control animals, these reference values were much lower than other estimates in a similar amount.¹⁴ Thus, each laboratory may need to establish its own normal range for these particular acid-base parameters based on the formula and the lab analyzers used. Otherwise comparison between studies may become rather confusing. Nevertheless, nearly all of the hypoalbuminemic patients that underwent the study showed SIG or adjusted AG values below or over the reference range, respectively. As mentioned before in the text, albumin forms most of the negative charge (A_{tot}) and the SIG calculation and adjusted AG calculations incorporate that contribution. The SIG and adjusted AG calculations more accurately estimate the unmeasured anion charge in animals with abnormal serum protein or phosphate concentrations than does the AG.⁶³ In our study, high correlations between SIG and AG_{alb} ($r = 0.93$, $p < 0.001$) or SIG and $AG_{\text{alb-phos}}$ ($r = 0.86$, $p < 0.001$) were documented but not between SIG and AG ($r = 0.65$, $p < 0.001$). Similarly to the previously mentioned limitation about the A_{tot} formula, the SIG equation used in the study do not allowed us to evaluate the impact of phosphate. Additionally, this aspect could explain the lower correlation encountered between

the SIG and the $AG_{\text{alb-phos}}$. Nevertheless, our results agree with many human studies^{55,66,67} where if adjusted AG is used, then the traditional method could perform at least as well as the quantitative approach in uncovering a hidden metabolic disorder.

The increased concentration of unidentified strong anions, such as lactate, ketoacids, pyruvate, citrate, acetate, urate, gluconate, and others in plasma defines the SIG acidosis.^{68,69} This metabolic disorder has been reported in humans associated to many life-threatening problems such as severe sepsis, coronary artery bypass, diabetic ketoacidosis, and acute kidney failure; but its association with mortality remains controversial according to several recent publications.⁷⁰⁻⁷² According to the high incidence of this metabolic imbalance encountered in the present work further studies are warranted to document SIG's value as a predictor of morbidity and mortality after admission to a veterinary ICU.

Finally, there are some limitations in this study that should be mentioned. A first limitation of the present study refers to the population submitted to study. The patients included in the study were not classified on admission to the ICU according to an injury severity scoring system. This could make it difficult to reproduce or compare our results with those of other potentially future studies. A second limitation of the study refers to the point-of-care used in the study. Although the hand-held analyser used in the study may not be as precise as bench top analyzers, it has been validated for use in dogs. Several studies have compared the accuracy of point of care analyzers with standard laboratory methods in humans^{73,74} and similar bias and precision were obtained in canine studies made over normal population.⁷⁵ Studies performed in hospital settings showed excellent correlation ($\geq 90\%$) between methods for the studied acid-base parameters and electrolytes, except for the potassium.⁷⁶ The possible underestimation of the obtained values for the potassium did not affect the results of the SID and the metabolic disturbances associated to it. In humans, falsely increased chloride results for blood samples with increased BUN have been reported with the

hand-held analyser used in our study,⁷⁷ but have not been documented in veterinary species. In the author's opinion and according to the obtained results for the chloride concentration and other related parameters such as SID, AG, and SIG, a likely overestimation of chloride values could explain the particular reference ranges and the encountered values in patients submitted to study. A third limitation of the study refers to the L-lactate determination. This parameter was not included in the study because could not be determined in all patients during their admission process in the ICU. In addition, the measurement of ketonemia using a portable meter could also confirm the role of other non-routinely measured strong anions, such as the 3- β -hydroxybutyrate, in DKA patients.^{78,79}

In conclusion, in the present study the agreement between the traditional and quantitative methods of interpretation of acid-base balance was poor, and many imbalances were detected using the quantitative approach but would remain undetected using the traditional approach to acid-base status. Moreover, these alterations were different according to the characteristics of the disease in each hypoalbuminemic patient. Then, using the quantitative approach a more rational treatment might be individually applied. Besides this, further studies are necessary to confirm the higher clinical utility in the decision-making process on the critically ill patient and the impact on outcome derived from this.

Footnotes

- a. Cobas Mira, Roche Diagnostics. Rotkreuz, Switzerland.
- b. Omnifix-F Duo. B.Braunn VetCare SA, Rubí, Barcelona, Spain.
- c. i-STAT Corporation. Abbott Laboratories, East Windsor, NJ, USA.
- d. SAS 9.2, SAS Institute, Raleigh, NC, USA

Table 1: Values, mean \pm SD, of plasma Na⁺, K⁺, Cl⁻, Alb, TP, Pi, as well as pH, pvCO₂, HCO₃⁻, BE, AG, SID, A_{tot}, and SIG levels in control and hypoalbuminemic groups*

Item	mean \pm SD Control (n = 135)	mean \pm SD mild hypoalb (n = 58)	mean \pm SD severe hypoalb (n = 47)	P-value
Na ⁺ , mmol/L(mEq/L)	144 \pm 2.9 ^b	147 \pm 7.6 ^a	144 \pm 8.9 ^{ab}	0.027
K ⁺ , mmol/L(mEq/L)	3.99 \pm 0.412 ^b	4.06 \pm 1.411 ^{ab}	4.35 \pm 1.099 ^a	0.061
Cl ⁻ , mmol/L(mEq/L)	116 \pm 4.1 ^b	120 \pm 10.6 ^a	118 \pm 8.8 ^{ab}	0.007
Alb, g/L	35.7 \pm 5.76 ^a	22.5 \pm 1.32 ^b	17 \pm 3.20 ^c	<0.001
g/dL	3.57 \pm 0.576 ^a	2.25 \pm 0.132 ^b	1.70 \pm 0.320 ^c	<0.001
TP, g/L	68.5 \pm 10.32 ^a	61.3 \pm 13.62 ^b	53.3 \pm 21.61 ^c	<0.001
g/dL	6.85 \pm 1.032 ^a	6.13 \pm 1.362 ^b	5.33 \pm 1.596 ^c	<0.001
P _i , mmol/L	1.56 \pm 0.476 ^b	1.91 \pm 1.263 ^{ab}	2.20 \pm 4.942 ^a	<0.001
mg/dL	4.83 \pm 1.475 ^b	5.92 \pm 3.912 ^{ab}	6.83 \pm 4.942 ^a	<0.001
pH	7.42 \pm 0.044 ^a	7.32 \pm 0.134 ^b	7.30 \pm 0.097 ^b	<0.001
pvCO ₂ , mmHg	33.3 \pm 5.04	31.5 \pm 7.95	32.4 \pm 7.96	0.2021
HCO ₃ ⁻ , mmol/L(mEq/L)	21.2 \pm 2.52 ^a	17.0 \pm 6.48 ^b	16.4 \pm 5.21 ^b	<0.001
SBE, mmol/L(mEq/L)	-2.91 \pm 2.874 ^a	-9.04 \pm 8.345 ^b	-9.98 \pm 6.439 ^b	<0.001
AG, mmol/L(mEq/L)	11.1 \pm 3.27 ^c	14.2 \pm 7.15 ^b	14.5 \pm 5.55 ^a	<0.001
AG _{alb} , mmol/L(mEq/L)	11.1 \pm 3.27 ^c	20.6 \pm 7.11 ^b	23.2 \pm 6.71 ^a	<0.001
AG _{alb-phos} , mmol/L(mEq/L)	11.1 \pm 3.27 ^c	19.4 \pm 7.39 ^b	21.8 \pm 6.71 ^a	<0.001
SID, mmol/L(mEq/L)	32.3 \pm 3.72	31.1 \pm 8.32	30.9 \pm 5.69	0.189
A _{tot} , mmol/L(mEq/L)	18.5 \pm 2.79 ^a	16.5 \pm 3.68 ^b	14.4 \pm 5.83 ^c	<0.001
SIG, mmol/L(mEq/L)	6.46 \pm 4.029 ^a	-3.54 \pm 7.379 ^b	-6.57 \pm 5.654 ^c	<0.001

*Na⁺, sodium; K⁺, potassium; Cl⁻, chloride; Alb, albumin; TP, total protein; Pi, inorganic phosphorus, pvCO₂, partial pressure of CO₂; HCO₃⁻, bicarbonate; SBE, standardized base excess; AG, anion gap; SID, strong ion difference; A_{tot}, non-volatile weak buffers; SIG, strong ion gap.

^{a, b, c} Means presenting different super index within rows are significantly different (P < 0.05)

Table 2. Interpretation of acid-base balance of all hypoalbuminemic dogs (N=105) using the traditional and the quantitative approach, as n(%)^δ.

Quantitative approach	<2.5	<2	Total	Traditional approach	<2.5	<2	Total
Normal	10	1	11(10.5%)	Normal	9	1	10(9.5%)
Simple disorders			33(31.4%)	Simple disorders			54(51.4%)
Resp acidosis		1	1(0.9%)	Resp acidosis	1	1	2(1.9%)
SID acidosis	1	3	4(3.8%)	Resp alkalosis	2		2(1.9%)
SID alkalosis	2		2(1.9%)	Metabolic acidosis	23	26	49(46.7%)
Atot alkalosis	1		1(0.9%)	Metabolic alkalosis	1		1(0.9%)
SIG acidosis	16	9	25(23.8%)	Mixed disorders			41(39.0%)
Complex disorders			61(58.1%)	Resp acidosis + metabolic acidosis	12	12	24(22.9%)
Resp acidosis + SIG acidosis	2	1	3(2.8%)	Resp alkalosis + metabolic acidosis	7	5	12(11.4%)
Resp alkalosis + SIG acidosis	7	2	9(8.6%)	Resp alkalosis + metabolic alkalosis	1		1(0.9%)
Resp alkalosis + SID acidosis	2		2(1.9%)	Metabolic acidosis (high AG acidosis) + metabolic alkalosis	2	2	4(3.8%)
SID acidosis + Atot alkalosis	1		1(0.9%)				
SID acidosis + SIG acidosis	1	1	2(1.9%)				
SID alkalosis + SIG acidosis	3	1	4(3.8%)				
Atot acidosis + SIG acidosis	1	2	3(2.8%)				
Atot alkalosis + SIG acidosis	5	15	20(19.0%)				
Resp acidosis + SID alkalosis+ SIG acidosis		1	1(0.9%)				
Resp acidosis + Atot alkalosis+ SIG acidosis	2	2	4(3.8%)				
Resp alkalosis+ SID acidosis+ Atot alkalosis	1		1(0.9%)				
Resp alkalosis+ SID acidosis+ SIG acidosis	1		1(0.9%)				
Resp alkalosis + Atot alkalosis+ SIG acidosis	1	4	5(4.7%)				
SID acidosis + Atot acidosis + SIG acidosis	2		2(1.9%)				
SID alkalosis + Atot alkalosis + SIG acidosis	1	2	3(2.8%)				

^δ Strong ion difference (SID). Nonvolatile weak buffers (A_{tot}) and Strong anion gap (SIG) . Resp : Respiratory.

Results are showed according to the severity of hypoalbuminemia: moderate hypoalbuminemia (Alb=2.1-2.5 g/dL) and severe hypoalbuminemia (Alb<2g/dL).

References

1. Hume DZ, Drobatz KJ, Hess RS. Outcome of dogs with diabetic ketoacidosis: 127 dogs (1993-2003). *F Vet Intern Med* 2006; 20:547-555.
2. Leisewitz AL, Jacobson LS, de Morais H et al. The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. *J Vet Intern Med* 2001; 15:445-452.
3. De Morais HAS, Di Bartola SP. Ventilatory and metabolic compensation in dogs with acid base disturbances. *J Vet Emerg Crit Care* 1991;1:39-42.
4. Hopper K, Haskins SC. A case review of a simplified quantitative approach to acid-base analysis. *J Vet Emerg Crit Care* 2008; 18:467-476.
5. Hopper K, Epstein SE. Incidence, nature and etiology of metabolic acidosis in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2012; 26:1107-1114.
6. Moore LE, Garvey MS. The effects of hetastarch on serum colloid oncotic pressure in hypoalbuminemic dogs. *J Vet Int Med* 1996; 10(5):300-303.
7. Drobatz KJ, Macintire DK. Heat-induced illness in dogs: 53 cases (1976-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209(11):1894-1899.
8. Blunt MC, Nicholson JP, Park GR. Serum albumin and colloid osmotic pressure in survivors and non survivors of prolonged critical illness. *Anaesthesia* 1998; 53:755-761.
9. Reinhardt GF, Wilkins DB, Mysocofski JE, et al. Incidence and mortality of hypoalbuminemic patients in hospitalized veterans. *J Parent Ent Nutr* 1980; 4(4): 357-359.
10. Iseki K, Kawazoe N, Fukiyama K. Serum albumin is a strong predictor of death in chronic dialysis patients. *Kidney Int* 1993; 44(1):115-119.
11. McEllistrum MC, Collins JC, Powers JS. Admission serum albumin level as a predictor of outcome among geriatric patients. *South Med J* 1993; 86(12):1360-1361.
12. Law MR, Morris JK, Wald NJ, et al. Serum albumin and mortality in the BUPA study. *Int J Epidemiol* 1994; 23(1):358-341.

13. Constable PD. A simplified strong ion model for acid-base equilibria: application to horse plasma. *J Appl Physiol* 1997; 83:297-311.
14. Di Bartola SP. Metabolic acid-base disorders. In: DiBartola S(ed) *Fluid, electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*. 3 rd. edn. St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2006, pp 251-283.
15. Barden RP, Thompson WD, Ravdin IS. The influence of serum protein on the motility of the small intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 66:819-821.
16. Ford EG, Jennings LM, Andrassy RJ. Serum albumin (oncotic pressure) correlates with enteral feeding intolerance in the pediatric surgical patient. *J Pediatr Surg* 1987; 22(7):597-599.
17. De Morais HA, Constable PD. Strong ions approach to acid-base disorders, In: Di Bartola S (ed) *Fluid, electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*. 3 rd. edn. St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2006,pp. 310-321.
18. Boyle M, Baldwin I. Introduction to an alternative view of acid/base balance: the strong ion difference or Stewart approach. *Aust Crit Care* 2002; 15:14-20.
19. Quintard H, Hubert S, Ichai C. What is the contribution of Stewart's concept in acid-base disorders analysis? *Ann Fr Anesth Reanim* 2007; 26(5):423-433.
20. Stewart PA. Modern quantitative acid-base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 1983; 61:1444-146.
21. Stewart P. Independent and dependent variables of acid-bas control. *Respir Physiol* 1978;33:9-26
22. Wilkes P, Normal SID. In: Kellum JA, Elbers P.eds. *Stewart's Texbook of Acid-Base*. 2nd edn. Amsterdam, The Netherlands: Lulu.com; 2009; 37(10):2733-2739.
23. Kurtz I, Krautt J, Ornekian V et al. Acid-base analysis: a critique of the Stewart and bicarbonate-centered approaches. *Am J Physiol* May 2008; 294 (5) F1009-1031.

24. Durward A, Skellett S, Mayer A et al. The value of chloride:sodium ratio in differentiating the aetiology of metabolic acidosis. *Intensive Care Med* 2001; 27:828-835.
25. Gilfix BM, Bique M, Magder S. A physical chemical approach to the analysis of acid-base balance in the clinical setting. *J Crit Care* 1993; 8:187-197.
26. Wilkes P. Hypoproteinemia, strong-ion difference, and acid-base disturbances in critically ill patients. *J Appl Physiol* 1998; 84(5):1740-1748.
27. Story DA, Poustie S, Bellomo R. Quantitative physical chemistry analysis of acid-base disorders in critically ill patients. *Anaesthesia* 2001; 56(6):530-533.
28. Viu J, Jose-Cunilleras E, Armengou L et al. Acid-base imbalances during a 120 km endurance race compared by traditional and simplified strong ion difference methods. *Equine Vet J* 2010, 42 (suppl 38):76-82.
29. Reinhold P, Hartmann H, Constable P. Characterisation of acid-base abnormalities in pigs experimentally infected with *Chlamydia suis*. *Vet J* 2010; 184(2):212-218.
30. Constable PD, Stampfli HR, Navetat H et al. Use of a quantitative strong ion approach to determine the mechanism for acid-base abnormalities in sick calves with or without diarrhea. *J Vet Intern Med* 2005; 19(4):581-589.
31. Piesch RL, Toll PW, Leith DE et al. Acid-base changes in the running greyhound: contributing variables. *Journal of Applied Physiology* 1992;73,(6): 2297-2304.
32. Siegling-Vlitakis C, Kellermeier KB, Schmitz R et al. Qualification of the Stewart variables for the assessment of the acid-base status in healthy dogs and dogs with different diseases. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007; 120 (3-4):148-155.
33. Slawuta P, Glinska-Suchocka K. Comparison of the utility of the classic model (the Henderson-Hasselbach equation) and the Stewart model (Strong Ion Approach) for the diagnostics of acid-base balance disorders in dogs with right sided heart failure. *Polish J Vet Sci* 2012; 15 (1):119-124.

34. NCCLS publication C46-A—Blood Gas and pH Analysis and Related Measurements; Approved Guideline (ISBN 1-56238-444-9). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.
35. Constable PD, Stämpfli HR. Experimental Determination of Net Protein Charge and A_{tot} and K_a of Non-volatile Buffers in Canine Plasma. *J Vet Intern Med* 2005; 19(4):507-514.
36. Stewart, PA. Modern quantitative acid-base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 1983; 61:1444-1461.
37. Fencel V, Leith DE. Stewart's quantitative acid-base chemistry: application in biology and medicine. *Respir Physiol* 1993; 91(1):1-16.
38. Di Bartola SP, De Morais HAS. Respiratory acid-base disorders. In: DiBartola SP, editor. *Fluid therapy in small animal practice*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992, pp. 258-275.
39. Rehm M, Conzen PF, Peter K et al. The Stewart mode. "Modern" approach to the interpretation of the acid-base metabolism. *Anaesthetist* 2004; 53:347-357.
40. Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *J Vet Emerg Crit Care* 2002; 12(2):113-124.
41. Aguilera-Tejero E, Fernández H, Estepa JC et al. Arterial blood gases and acid-base balance in geriatric dogs. *Res Vet Sci* 1997; 63(3):253-256.
42. Figge J, Rossing Th, Fencel V. The role of serum protein in acid-base equilibrium. *J Lab Clin Med* 1991; 117:453-467.
43. Figge J, Rossing Th, Fencel V. Serum proteins in acid-base equilibria: a follow up. *J Lab Clin Med* 1992; 120(5):713-719.
44. Peters Jr T. *All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications*. 1st ed. San Diego: Academic Press; 1995, pp. 104-105.

45. De Morais HA. A non traditional approach to acid-base disorders. In: DiBartola SP, editor. Fluid therapy in small animal practice. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992, pp. 297-320.
46. Rossing TH, Boixeda D, Maffeo H, et al. Hyperventilation with hypoproteinemia. J Lab Clin Med 1988; 112:553-559.
47. Mc Auliffe JJ, Lind LJ, Leith DE, et al. Hypoproteinemic alkalosis. Am J Med 1986; 81:86-90.
48. Gauthier PM, Szerlip HM. Metabolic acidosis in the intensive care unit. Crit Care Clin 2002; 18:289-308.
49. Corey HE. Stewart and beyond: New models of acid-base balance. Kidney Int. 2003; 64:777-787.
50. Kellum JA. Determinants of blood pH in health and disease. Crit Care 2000; 4:6-14.
51. Schlichtig R, Grogono AW, Severinghaus JW. Human PaCO₂ and standard base excess compensation for acid base imbalance. Crit Care Med 1998 Jul; 26(7):1173-1179.
52. Park M, Taniguchi LU, Noritomi DT, et al. Clinical utility of standard base excess in the diagnosis and interpretation of metabolic acidosis in critically ill patients. Braz J Med Biol Res 2008; 41:241-249.
53. Noritomi DT, Soriano FG, Kellum JA, et al. Metabolic acidosis in patients with severe sepsis and septic shock: A longitudinal quantitative study. Crit Care Med 2009; 37:2733-2739.
54. Hopper K, Rezende ML, Haskins SC. Assessment of the effect of dilution of blood samples with sodium heparin on blood gas, electrolyte, and lactate measurements in dogs. Am J Vet Res 2005; 65:656-660.
55. Fencel V, Jabor A, Kazda A, et al. Diagnosis of metabolic acid-base disturbances in critically ill patients. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162:2246-2251.

56. Carvounis CP, Feinfeld DA. A simple estimate of the effect of the serum albumin level on the anion gap. *Am J Nephrol* 2000; 20:369-72.
57. Lolekha PH, Lolekha S. Value of the anion gap in clinical diagnosis and laboratory evaluation. *Clin Chem* 1983; 29:279-283.
58. Figge J, Jabor A, Kazda A, et al. Anion gap and hypoalbuminemia. *Crit Care Med* 1998; 26:1807-1810.
59. Feldman M, Soni N, Dickson B. Influence of hypoalbuminemia or hyperalbuminemia on the serum anion gap. *J Lab Clin Med* 2005; 146:317-320.
60. Rodríguez-García J, Sogo T, Otero S, et al. Transferability of results obtained for sodium, potassium and chloride ions with different analysers. *Clin Chim Acta* 1998; 275:151-162.
61. Stewart P. How to understand acid-base. A quantitative acid-base primer for biology and medicine, 1981. www.acidbase.org
62. Constable PD. Clinical assessment of acid-base status. Strong ion difference theory. *Vet Clin North Am Foof Anim Pract* 1999; 15(3):447-471)
63. Rocktaeschel J, Morimatsu H, Uchino S. et al. Acid-base status of critically ill patient with acute renal failure: analysis based on Stewart-Figge methodology. *Crit Care* 2003; 7(4):R60.
64. Wilkes P. Hypoproteinemia, strong-ion difference, and acid base status in critically ill patients. *J Appl Physiol* 1998; 84(5):1740-1748.
65. Fetting P, Bailey D, Gannon K. Determination of strong ion gap in healthy dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2012; 22(4):447-452.
66. Dubin, A, Menises MM, Masevicius FD, et al. Comparison of three different methods of evaluation of metabolic acid-base disorders. *Crit Care Med* 2007; 35(5):1264-1270.

67. Martin M, Murray J, Berne T et al. Diagnosis of acid-base derangements and mortality prediction in the trauma intensive care unit: the physiochemical approach. *J Trauma* 2005; 58:238-243.
68. Wilkes P. Normal SID. In: Kellum J, Elbers P, editors. *Stewart's Textbook of Acid-Base*, 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Lulu Enterprises, UK Ltd.; 2009, pp. 201-215.
69. Venkatesh B, Morgan T. Unmeasured anions: the unknown unknowns. *Crit Care* 2008; 12(1):1-2.
70. Balasubramanyan N, Havens PL, Hoffman GM. Unmeasured anions identified by the Fencl-Stewart method predict mortality better than base excess, anion gap and lactate in patients in the pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 1999; 27:1577-1581.
71. Cusack RJ, Rhodes A, Lothead P, et al. The strong ion gap does not have prognostic value in critically ill patients in a mixed medical /surgical adult ICU. *Intensive Care Med* 2002; 28: 864-869.
72. Kaplan LJ, Kellum JA. Initial pH, base deficit, lactate, anion gap, strong ion difference, and strong ion gap predict outcome from major vascular trauma. *Crit Care Med* 2004; 32:1220-1124.
73. Gault HM, Harding CE. Evaluation of i-STAT portable clinical analyzer in a hemodialysis unit. *Clin Biochem* 1996; 29(2):117-124.
74. Mock T, Morrison D, Yatscoff R: Evaluation of the i-STAT system: A portable chemistry analyzer for the measurement of sodium, potassium, chloride, urea, glucose, and hematocrit. *Clin Biochem* 1995; 28:187-192.

75. Raffe Mr, Randall D, Kulas C, et al. Validation of a point of care chemistry and blood gas analyzer in dogs. In: Proceedings of the International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium; 1996: San Antonio, USA. pp. 879.
76. Grosenbaugh DA, Gadawski JE, Muir WW. Evaluation of a portable clinical analyzer in a veterinary hospital setting. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213:691-694.
77. Pinckard JK, Zahn J, Ashby L, et al. Falsely increased i-STAT chloride results for blood samples with increased urea. *Clin Chem* 2001; 47:2064–2066.
78. Di Tommaso M, Aste G, Rocconi F, et al. Evaluation of a portable meter to measure ketonemia and comparison with ketonuria for the diagnosis of canine diabetic ketoacidosis. *Medicine. J Vet Intern Med* 2009; 23(3):466-471.
79. Henderson DW, Schlesinger DP. Use of point-of-care beta-hydroxybutyrate sensor for detection of ketonemia in dogs. *Can Vet J* 2010; 51:1000-1002.

Estudio 2:

Comparison of plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in SIRS/septic dogs

Assumpte: Journal of Veterinary Emergency and Critical Care

De: dchan@rvc.ac.uk

Data: 23/01/2014 22:29

A: Carlos.Torrente@uab.es

CC: nadja.sigrist@bluewin.ch

23-Jan-2014

JVECC-13-08-0005.R3 - Comparison of plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in SIRS/septic dogs

Dear Dr. Torrente:

I'm pleased to inform you that your manuscript has completed the peer review process and has been recommended for publication by the editors. Your manuscript is now queued for final editing. Please expect to receive my final editorial revisions in the coming months.

The publisher is now issuing a new copyright transfer agreement which will be sent to the corresponding author following the final edited version of the manuscript.

Thank you for your fine contribution and congratulations.

Sincerely,

Daniel L. Chan, DVM, DACVECC, DACVN, MRCVS
Editor-in-Chief
Journal of Veterinary Emergency and Critical Care

Running title: Iron in SIRS dogs

Comparison of plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in SIRS/septic dogs

Torrente C^{1,3} DVM MSc, Manzanilla EG² DVM PhD MPVM DECPHM,
Bosch L^{1,3} DVM MSc, Fresno L³ DVM PhD, Rivera del Alamo M³ DVM PhD DECAR,
Andaluz A³ DVM PhD, Saco Y⁴ DVM, Ruiz de Gopegui R³ DVM, PhD, DECVIM

1. Servei d'Emergències i Cures Intensives FHCV-UAB.
2. Departament de Ciència Animal i dels Aliments.
3. Departament de Medicina i Cirurgia Animals.
4. Departament de Bioquímica i Biologia molecular, Facultat de Veterinària de la UAB.
Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

The present work has been presented in the scientific abstracts session at the 25th IVECCS Congress, September 7-11, 2013 in San Diego, USA.

The authors declare no conflicts of interest.

Address correspondence and reprint requests to:

Carlos Torrente Artero, Servei d'Emergències i Cures Intensives de la Fundació Hospital Clínic Veterinari de la UAB (FHCV-UAB) i Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, UAB, 08193, Bellaterra, Barcelona, Spain

Email: Carlos.Torrente@uab.cat

Abstract

Objective: To investigate the diagnostic and prognostic value of plasma iron vs. the inflammatory markers albumin, C-reactive protein (CRP), and fibrinogen on admission and over the ICU stay of dogs with systemic inflammatory response syndrome (SIRS).

Design: Prospective observational study of sequentially enrolled dogs.

Setting: ICU of a Veterinary Teaching Hospital.

Animals: One-hundred and sixteen client-owned dogs: fifty-four dogs with SIRS/sepsis, forty-two with local inflammation, and twenty clinically healthy dogs.

Measurements and main results: Blood samples were taken on admission in all study groups, and then on alternate days until discharge or death in both inflammation groups. On admission, dogs with SIRS had significantly lower plasma iron ($65 \pm 5.8 \mu\text{g/dL}$, $P=0.001$) concentrations than dogs with local inflammation ($89.5 \pm 6.2 \mu\text{g/dL}$, $P=0.001$). Plasma iron, albumin, and CRP were able to separate dogs in the SIRS/sepsis group from those presenting local inflammation with areas under the curve for the receiver operating curves of 0.679, 0.834, and 0.704 respectively.

The admission values for these variables did not separate survivors and non-survivors within the SIRS/sepsis group. However, the increase in iron and the decrease in CRP, from admission to discharge, was higher in survivors than in non-survivors within the SIRS/sepsis group (22.8 vs. 2.51 $\mu\text{g/dL}$ respectively, $P = 0.021$ for iron; -67.1 vs. -4.1 mg/L respectively, $P = 0.002$ for CRP), resulting in discharge iron and CRP concentrations for survivors similar to those in the local inflammation group.

Conclusion: Hypoferremia is a sensitive marker of systemic inflammation in dogs. In this study, the increase in iron concentrations during the hospitalization period of SIRS/septic dogs was associated to a better prognosis, suggesting that plasma iron in combination with CRP and albumin concentrations might be used to monitor the inflammatory process.

Key words: acute-phase proteins, hypoferremia, inflammation, outcome

Abbreviations

APP	acute phase protein
AUC	area under the curve
CRP	C-reactive protein
ROC	receiver operating curve
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TPTZ	2,4,6-Tri-(2-piridil)-5-triacine

Introduction

Systemic inflammation response syndrome is defined as the widespread body response to an insult known to cause a systemic release of inflammatory mediators and a generalized inflammation in the organism, and it can occur in multiple disease processes in both humans and animals.¹⁻³ Although it is commonly associated with infection (bacterial, fungal, protozoal, or viral origin), SIRS has also been described in patients with pathologic processes of non-infectious origin, such as burns, immunomediated diseases, severe trauma, major surgery, neoplasia, and pancreatitis. In patients affected by these processes, this inflammatory response may lead to a progressive deterioration of the patient's clinical condition due to vascular hyporeactivity, increased endothelial permeability, hypercoagulability, and, in the final stages, circulatory shock, multiple organ failure, and death.

The progression of SIRS is characterized by a rapid and nonspecific response with changes in the concentration of APPs.^{4,5} Some APPs, such as CRP, haptoglobin, ceruloplasmin, serum amyloid A, or fibrinogen, increase their levels in blood and are called positive APPs. In

contrast, other APP's (negative APP's) such as albumin, or transferrin show a decrease in their plasmatic concentrations. Plasma iron concentration also decreases in response to inflammation, in both humans and animals.⁶⁻¹²

In humans, SIRS is relatively frequent and is associated with high mortality rates. Thus, biomarkers with good diagnostic and prognostic value on a disease specific basis are needed.¹³⁻¹⁶ However, data on the incidence of SIRS and the usefulness of its biomarkers in veterinary medicine is scarce.^{1,3} Limited information is available on the diagnostic and prognostic value of plasma iron and APPs in dogs naturally affected by SIRS.

Our hypothesis is that plasma iron is a SIRS marker and may potentially constitute a mortality predictor in critically ill dogs with SIRS. Therefore, the first objective of the study was to determine the concentrations of plasma iron and other traditional inflammatory markers (albumin, CRP, and fibrinogen) in dogs suffering local inflammation, non-infectious SIRS and infectious SIRS or sepsis. A second objective of the study was to serially measure these variables during the ICU stay and assess its possible relationship with the survival rate in SIRS/septic dogs.

Materials and Methods

This study procedure received the prior approval from the Animal Protocol Review Committee of the XXXXX, and owner consent was obtained for the enrollment of the animals.

Animals

This was a prospective observational study. Dogs that were consecutively admitted to the mixed medico-surgical ICU xxxxxxxxxxxx from 2009-2011 were considered for inclusion in this study. The medical records and physical examination data of all severely ill dogs were examined on admission to the ICU for evidence of SIRS.² To be included, the dogs had to show at least two documented indicators of systemic inflammation: hyperthermia (> 39.4°C),

hypothermia (< 37.8°C), tachycardia (> 140 bpm), tachypnea (> 20 rpm), neutrophilia (> 16.0 x 10⁶ cells/μL), neutropenia (< 6.0 x 10⁶ cells/μL), or left shift in neutrophils (band cells > 3%). The dogs meeting the inclusion criteria were subsequently divided into 2 groups: non-infectious SIRS and infectious SIRS (sepsis). Sepsis was defined as SIRS with the confirmed presence of infection based on cytological, histological, or microbiological evidence. The diseases responsible for the systemic inflammation in non septic patients were also recorded. Exclusion criteria were recent steroid treatment, blood products transfusion, or iron supplementation.

Blood samples were taken on admission (day 0) and then on alternate days (days 2, 4, 6, etc.) until the patient was dead or discharged from the ICU. Changes in iron, albumin, CRP, and fibrinogen concentrations between the admission sample and last sample taken before discharge, euthanasia, or death were used to determine if there was any relationship between changes in these inflammatory markers and outcome. Euthanized dogs were included in the study only if they were judged to be moribund with end-stage disease at the time of euthanasia. Patients that were euthanized exclusively due to financial concerns, regardless of their clinical condition or prognosis were excluded from analysis.

Data were also collected from two control groups. The positive control group included dogs admitted to the ICU for any disease processes or for post-surgical recovery with evidence of local inflammation and without meeting the criteria for SIRS. The negative control group included clinically healthy blood donor dogs (n=20) from the Animal Blood Bank of the Veterinary School, whose physical examination, CBC and serum biochemistry were within normal limits.

Sample analysis

Blood samples were obtained at admission through venipuncture of the jugular vein, and a total of 5-10 mL were collected from each dog into EDTA tubes, citrate tubes, lithium-

heparinized tubes, and tubes with no anticoagulant. In every patient, the EDTA blood was used to perform a CBC by an automated hematology analyzer,^a and also a Wright's-stained blood smear for assessing the 100-differential WBC count. The citrated samples were centrifuged at 2500 x g for 10 minutes to obtain citrated plasma. Fibrinogen concentration was determined in citrated plasma by the method described by von Claus¹⁷ using a viscosity-based detection system.^b The lithium-heparin blood samples were centrifuged at 3000 x g for 10 minutes to obtain heparinized plasma. Iron and albumin concentrations were determined on heparinized plasma with an automated chemistry analyzer^c using the manufacturer's reagents. Iron concentration in plasma was determined using TPTZ as a chromogen for colorimetric determination. Under acidic conditions, the iron bound to transferrin in the plasma sample is dissociated into free ferric ions and apotransferrin. The presence of hydrochloric acid and sodium ascorbate reduces ferric ions to the ferrous state. Ferrous ions then react with TPTZ to form a blue coloring biochromatically quantifiable at 600/800nm. The increase in absorbance is directly proportional to the amount of iron present in the sample.

The albumin concentration was determined by a colorimetric assay with a commercially available bromocresol green reagent.^d The serum samples for quantitative measurements of CRP were obtained by centrifugation (2000 x g, 5 minutes) of the blood samples without anticoagulant after clot formation. The samples were stored in plastic vials at -20°C until analysis. CRP from canine serum was determined according to the manufacturer's instructions using the commercial test kit Canine CRP^e system, a magnetic permeability based assay that has proven useful for near-patient CRP measurement in human medicine and has also been validated for use in dogs at a point-of-care setting.

Statistical Analysis

All data analyses were performed using SAS 9.2^f. Variables were submitted to exploratory analysis, validated for normality and outliers, and the adequate descriptive

statistics were generated for each variable. All variables (Iron, Albumin, CRP, Fibrinogen) were studied for co-linearity using Pearson's correlation and their values were compared among control, local inflammation, and SIRS/sepsis groups using ANOVA. Multiple pair-wise comparisons were obtained using Tukey's correction. All independent variables were then studied as SIRS and survival predictors using logistic regression and received operating characteristic (ROC) curve analysis. Finally, values at admission and discharge were compared for animals with local inflammation and SIRS/sepsis (survivors and non-survivors) using repeated measures including group and day as fixed factors. Alpha level used for determination of significance in ANOVA and logistic regression was set at 0.05. Trends were discussed using an alpha level of 0.10. Area under the curve (AUC) in ROC curves was considered significant when the confidence interval did not include 0.5.

Results

Fifty-four dogs of 16 different breeds met the criteria for SIRS and were included in the study. The median age at presentation was 6 years (range from 2.5 months to 16 years). Twenty eight dogs were male (52%), 5 of them neutered, and 26 dogs were female (48%), 3 of them spayed. Forty three (79.6 %) dogs were diagnosed with sepsis and eleven (20.4%) with non-infectious SIRS. The most common source of sepsis was abdominal (n = 34), followed by dermal (n = 3), thoracic (n = 3), and urinary (n = 3). Underlying causes of abdominal sepsis included pyometra (n = 17), infectious gastroenteritis (n = 11), and peritonitis due to foreign bodies with intestinal perforation (n = 3) or to uterine perforation (n = 3). Dermal causes of sepsis included severe and generalized pyoderma (n = 2) and dermal abscess (n = 1). Respiratory causes of sepsis included pneumonia (n = 2), and pyothorax (n = 1). Finally, all urosepsis were caused by pyelonephritis. The non-infectious SIRS group included 11 patients. The causes of systemic inflammation in this group were neoplastic malignancy (n = 5), pancreatitis (n = 4), and ischemia-related necrotic injuries (n = 2).

All dogs included in the SIRS/sepsis group completed the first two days of the study, 24/54 dogs completed 4 days, 13/54 dogs completed 6 days, and 2/54 dogs completed 7 days of the study before either death or discharge from the ICU. Overall, 25/54 dogs with SIRS died (54.5% in the non-septic group, and 44.2% in the septic group).

Forty-two dogs were included in the positive control group. Seventeen of these dogs remained in the ICU for post-operative monitoring, mainly due to neurosurgery and major soft tissue major surgery. The other 25 dogs were admitted to the ICU due to severe clinical signs requiring close monitoring secondary to neoplastic (36%), gastrointestinal (32%), renal (28%), or hepatic (4%) disorders. After the initial (day 0) blood sample, additional samples were collected at 48-h intervals for additional days until ICU discharge of the patients (100%). All 42 dogs included in this group completed the first two days of the study, 18 of the 42 dogs completed 4 days, 6 of the 42 dogs completed 6 days, and 3 of the 42 dogs completed 7 days of the study before discharge from the ICU.

The plasma iron, albumin, CRP, and fibrinogen concentrations were normally distributed. Their mean values on admission for all groups are presented in Table 1. All variables were affected by disease. Iron and albumin concentrations were decreased in both local inflammation and SIRS/septic animals compared to negative control dogs ($P < 0.001$) and they were also lower in dogs presenting SIRS/sepsis compared to those presenting local inflammation ($P < 0.011$ and $P < 0.001$ for iron and albumin respectively). Concentrations of CRP were increased in both local inflammation and SIRS/septic groups compared to negative control dogs ($P < 0.001$) and its concentrations were significantly higher in dogs presenting SIRS/sepsis compared to those presenting local inflammation ($P < 0.001$). Fibrinogen concentrations were also increased in both local inflammation and SIRS/sepsis groups compared to negative control dogs ($P < 0.001$). However, there was no difference in fibrinogen concentrations between SIRS/septic animals and those with local inflammation. When

comparing septic vs non-infectious SIRS patients, no significant differences were detected for any of these variables.

All studied variables were able to successfully discriminate healthy animals from those presenting local or systemic inflammation with AUCs for the ROCs curves higher than 0.8 in all cases (Table 2). The values on admission of all variables were also assessed for their discrimination capabilities between patients with local inflammation from those with SIRS/sepsis, and also between survivors from non-survivors (within the SIRS/septic group). These results are shown in Table 3. Iron, albumin, and CRP concentrations were able to successfully separate those dogs in the SIRS group from those presenting local inflammation, with AUCs for the ROCs curve of 0.679, 0.834, and 0.704 respectively. Logistic regression showed that the best discrimination was obtained by combining iron and albumin (AUC for the ROC curve of 0.869). The admission values of these variables were not able to discriminate between survivors and non survivors within the SIRS/septic group.

The concentrations over time of the four markers from admission to discharge for dogs in the local inflammation group, and for survivors and non-survivors within the SIRS/sepsis group are presented in Figure 1. Dogs with local inflammation had higher concentrations of albumin ($P < 0.001$), iron ($P=0.005$), and lower concentrations of CRP ($P<0.001$) than those in the SIRS/sepsis group. The concentrations of albumin, iron, CRP, and fibrinogen did not significantly differ between survivors and non-survivors within the SIRS/sepsis group on admission and AUCs for the ROCs curves were not different from 0.5 (Table 3). However, the temporal changes of the studied variables, from admission to discharge, differed between survivors and non-survivors in the SIRS/sepsis group (Figure 1, Table 4). Specifically, survivors showed a significantly higher increase in plasma iron concentrations (22.8 vs. 2.51 $\mu\text{g/dL}$ respectively, $P = 0.021$), and a significantly lower reduction in CRP concentrations compared to non-survivors (-67.1 vs. -4.1 mg/L respectively, $P = 0.002$). Thus, on discharge, iron and CRP blood concentrations in dogs surviving SIRS/sepsis were similar to those from animals in the

local inflammation group. These differences were significant already by day 2 (Table 5). At this time, the increase in plasma iron concentrations was significantly higher (15.6 vs. -0.6 µg/dL respectively, $P = 0.009$) and the reduction in CRP concentrations was significantly lower (-45.8 vs. -1.2 mg/L respectively, $P = 0.011$) in survivors compared to non-survivors. The albumin concentrations on discharge in the survivors from the SIRS/sepsis group also tended to be higher compared to non-survivors ($P = 0.090$), however, albumin values on discharge for survivors were lower to the values shown by the local inflammation group.

Discussion

The results of this study indicate that plasma iron concentration is a suitable test to detect inflammatory response in dogs. In the dogs included in this study, plasma iron concentration was significantly lower and CRP concentration was significantly higher in dogs with systemic inflammation compared to both healthy dogs and dogs with local inflammation, and the progression of iron and CRP concentrations during ICU stay appear to reflect the evolution of the inflammatory process regardless of the underlying disease. In addition, our data suggest that the absence of normalization of plasma iron and CRP concentrations during the hospitalization period may predict a negative outcome.

The acute phase response encompasses several non-specific and complex physiological processes occurring soon after the onset of infection, trauma, malignancy, or inflammation. This response is characterized by clinical findings such as hyperthermia, leucocytosis, and increased endothelial permeability, but also includes many metabolic systemic effects such as changes in the concentration of many APP's and essential trace elements (zinc, copper, and iron).^{17,18} The decrease in iron concentrations occurs in less than 24h and it is thought to be mediated by hepcidine, produced by the liver in response to inflammatory cytokines.^{19,20,21} Hepcidine induces the loss of ferroportin in different cell types and inhibits the export of iron from the cellular compartment to plasma.^{22,23} This progressive decrease in plasma iron input

and the continued use of transferrin-bound iron results in hypoferrremia.²⁴ In the present study, the lower concentrations of plasma iron in patients with SIRS/sepsis could be explained by the severity of the disease processes in this group. To the authors' knowledge, this is the first report where low plasma iron has been described associated to inflammatory processes in dogs with naturally occurring SIRS/sepsis.

The pattern of the acute-phase response differs in different inflammatory conditions. Changes in APPs concentrations are useful to clinicians because they help diagnose and characterize the inflammatory process and may denote the need for therapeutic intervention. In this study, we compared the usefulness of plasma iron to described APPs: CRP, albumin, and fibrinogen.

CRP has been identified during inflammation in several species including dogs²⁵, and increased levels of this APP have been linked to the presence of various disorders,²⁶ and also their extent and severity.^{5,27-32} CRP in dogs is considered a major APP (10 to 100-fold increase in response to inflammatory stimuli) and has a short half-life (24-48h).^{4,11,33} In our study, dogs with SIRS/sepsis showed higher mean CRP concentrations than dogs with local inflammation. According to the ROC curve analysis, the sensitivity and specificity of CRP as a marker of SIRS in our study was similar to data previously reported in the human literature for critically ill children.³⁴

In veterinary medicine, low albumin levels have been reported in SIRS patients mainly associated to decreased liver production, leakage from the intravascular compartment associated to an increased capillary leakage, denaturation at sites of inflammation itself, and degradation of albumin bound to toxins.³⁵ Although albumin has been traditionally reported a useful, easy, and cheap marker for detection of inflammatory disease in dogs, it is also a non-specific and slow-reacting negative APP. In our study, plasma albumin concentration was inversely correlated to the severity of the inflammation.

Fibrinogen is a well-accepted APP in many species.³⁶ However, most of the interest in measuring fibrinogen in small animals has been focused on the diagnosis of haemostatic disorders.³⁷ Fibrinogen is not routinely measured as an inflammatory biomarker because of its low specificity, slow response, and only moderate increase in its concentration (2 to 4-fold increase) during inflammation. According to our results, fibrinogen is a good marker to differentiate sick dogs from healthy ones, increasing its concentration (as expected) in dogs suffering inflammation. However, fibrinogen was not affected by the severity of the inflammation.

All studied variables were specific indicators of inflammation when comparing ill dogs to healthy dogs, but only the iron, albumin, and CRP concentrations were significantly different between patients with local and systemic inflammation. According to the ROC analysis, all three markers showed a significant diagnostic capability, differentiating patients with local inflammatory response from those with systemic inflammation. In the present study, the combined use of both iron and albumin concentrations was found to be the best option for the diagnosis of systemic inflammatory disease in dogs. The addition of CRP did not increase the sensitivity and specificity of these markers to discriminate between local and systemic inflammation.

Regarding the temporal changes of the four markers from admission to discharge in SIRS/septic patients, different trends were detected in survivors vs. non-survivors. In survivors, iron and CRP showed an appreciable change in their concentrations (increased and decreased, respectively) parallel to the improvement in the clinical condition of our patients. Although low plasma iron concentrations have been previously described in veterinary species related to iron deficiency, hypothyroidism, renal disease, inflammatory reactions, and chronic inflammatory states,³⁸ this is the first report documenting the diagnostic and prognostic implications of hypoferremia in SIRS dogs. A relationship between a decrease in CRP concentration and recovery has been observed in both human and veterinary medicine.³

Interestingly, the changes in iron and CRP described in our study were observed very soon, after only 48h of hospitalization. Although more studies are necessary to further confirm this finding, it might be possible to make accurate outcome predictions regarding the odds of survival, considering the changes in CRP concentrations from day 0 to day 2, according to our results and to recently published studies in veterinary medicine.³⁹

In contrast, albumin concentration was also increased from admission to discharge in SIRS/septic survivors, but albumin concentrations at discharge did not recover completely, and did not reach the levels present in the local inflammation group. Non-survivors from the SIRS/septic group did not show any increase in albumin concentrations and its final average concentration was below 2.0 g/dL, value that has been associated with higher morbidity and mortality rates in veterinary critically ill patients.³⁵ One of the strongest predictors of mortality reported in the human literature is, in fact, low serum albumin concentrations.^{40,41} The acute phase response itself and the underlying cause of hypoalbuminemia have been suggested to play a predominant role in albumin concentrations and poor outcome, compared to other aspects such as the nutritional status of the patient.⁴²⁻⁴⁵ However, to date and to the authors' knowledge, there are no studies specifically addressing this subject in the veterinary literature.

Finally, no differences were found in blood iron, CRP, albumin, or fibrinogen concentrations between non-infectious SIRS and septic patients. In contrast with our findings, studies with humans have reported higher CRP levels in septic patients compared to those with non-infectious SIRS.⁴⁵

In summary, the results of this study showed that hypoferrremia is a sensitive indicator of systemic inflammation in dogs and iron concentration may be useful to detect acute inflammation similarly to other more traditional biomarkers. The use of plasma iron concentration in addition to the use of other markers of inflammation such as CRP or albumin would further increase the sensitivity of these tests for diagnosing systemic inflammatory disease in dogs. In this study, a decrease in CRP and increase in iron concentrations during the

hospitalization period of SIRS/septic dogs was associated to a better prognosis, suggesting that changes in these parameters might be used to monitor early response to therapy and improvement of the inflammatory process.

Footnotes

- a. ADVIA 120, Bayer Healthcare, Tarrytown, NY, USA.
- b. Start[®] Hemostasis analyzer, Diagnostic Stago, France.
- c. Olympus AU400, Hamburg, Germany.
- d. Albumin OSR 6102, Olympus Life and Material Science Europe GmbH, Lismeehan, O'Callaghan's Mills, Ennis, Clare, Ireland.
- e. Lifeassays[®] Canine CRP Test kit. Lifeassays AB, IDEON Science Park, Scheekevägen 19F:2, SE-23370, Lund, Sweden.
- f. SAS 9.2, SAS Institute, Raleigh, NC, USA

Figure 1. Changes in Fe, albumin, CRP, and fibrinogen from admission to discharge in dogs that suffered local inflammation (white columns, n = 42), and dogs that suffered SIRS/sepsis and survived (light grey columns, n = 29) or died (dark grey columns, n = 25). Differences were calculated as (discharge value – admission value). Columns presenting different letters within admission, discharge, and difference groups were significantly different (P < 0.05). Capital letters indicate that there was a trend (P < 0.10).

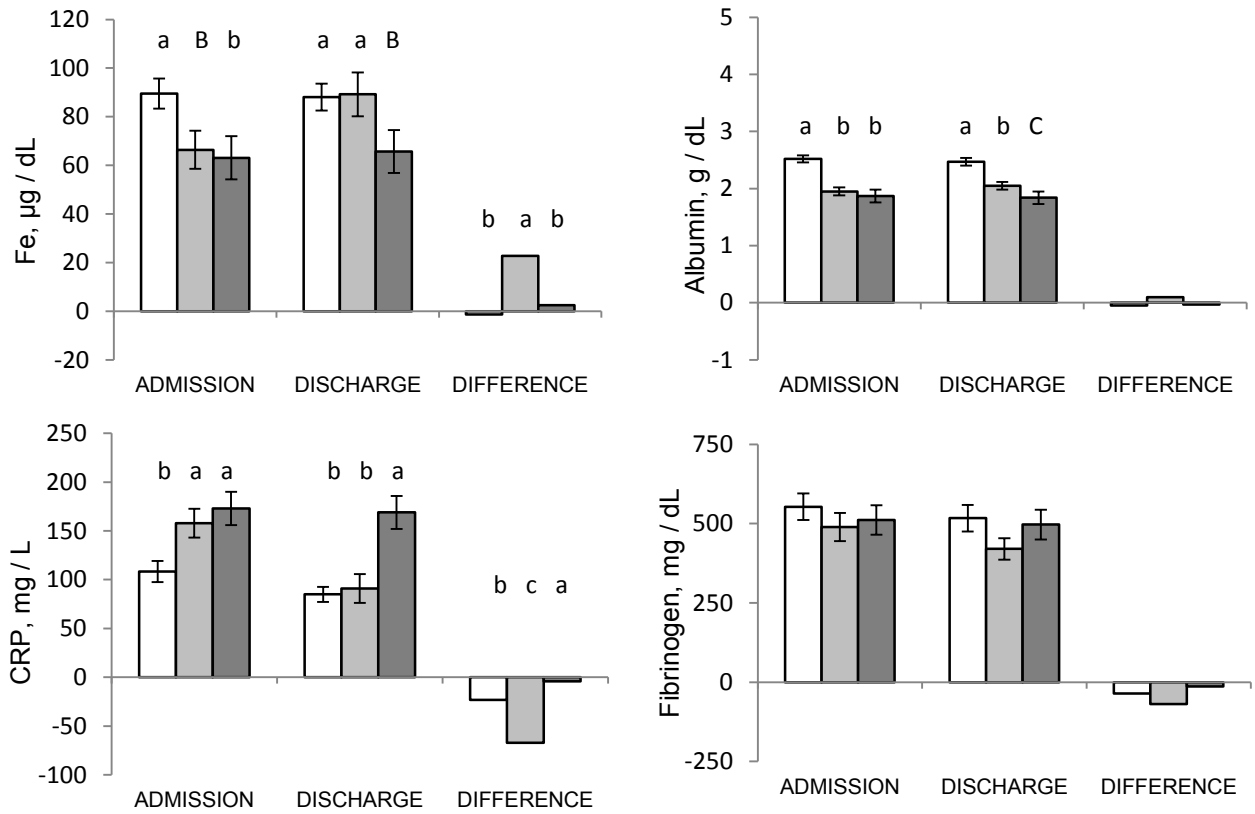


Table 1. Comparison of serum variables at admission among dogs suffering of local inflammatory problems or SIRS/sepsis, and healthy control dogs.

Item	Ref. values	Control	Local inflam.	SIRS/sepsis	P-value
N		20	42	54	
Albumin (Alb), g/dL	2.6 - 3.3	3.2 ± 0.33 ^a	2.5 ± 0.40 ^b	1.9c ± 0.47 ^c	<0.001
Plasma Iron (Fe), µg/dL	80 - 180	139 ± 36.7 ^a	89 ± 40.0 ^b	64c ± 42.3 ^c	<0.001
C-reactive protein (CRP), mg/L	< 35	22 ± 13.4 ^c	108 ± 70.1 ^b	165a ± 81.5 ^a	<0.001
Fibrinogen (Fib), mg/dL	200 - 400	213 ± 103.4 ^b	553 ± 270 ^a	500a ± 234.0 ^a	<0.001

^{a,b,c} Means within a row presenting different superscripts differs significantly (P < 0.05)

Table 2. Capability of the different variables to separate dogs in study groups evaluated by analysis of receiver operating characteristic curves (ROCs)

Item	Control vs Local Inflammation		Control vs SIRS/sepsis	
	AUC-ROC	95% CI	AUC-ROC	95% CI
Albumin (Alb)	0.911	(0.835, 0.987)	0.992	(0.979, 1.000)
Plasma Iron (Fe)	0.836	(0.737, 0.934)	0.888	(0.815, 0.960)
C-Reactive Protein (CRP)	0.932	(0.871, 0.992)	0.996	(0.989, 1.000)
Fibrinogen (Fib)	0.906	(0.834, 0.978)	0.878	(0.801, 0.955)
All	0.987	(0.966, 1.000)	1.000	(1.000, 1.000)

AUC-ROC, area under the receiver operating characteristic curve, CI, confidence interval,

Table 3. Capability of the different variables to separate dogs in study groups evaluated by analysis of receiver operating characteristic curves (ROCs)

Item	Local Inflammation vs. SIRS/sepsis		SIRS/sepsis - Survivor vs. Non-survivor	
	AUC-ROC	95% CI	AUC-ROC	95% CI
Albumin (Alb)	0.834	(0.752, 0.916)	0.556	(0.392, 0.719)
Plasma Iron (Fe)	0.679	(0.571, 0.787)	0.461	(0.295, 0.627)
C-Reactive Protein (CRP)	0.704	(0.600, 0.809)	0.554	(0.398, 0.710)
Fibrinogen (Fib)	0.535	(0.415, 0.655)	0.503	(0.343, 0.663)
Alb + Fe + CRP	0.863	(0.790, 0.937)	0.593	(0.436, 0.751)

AUC-ROC, area under the receiver operating characteristic curve, CI, confidence interval,

Table 4. Changes in Fe, albumin, CRP, and fibrinogen from admission to discharge in dogs that suffered local inflammation (n = 42), and dogs that suffered SIRS/sepsis and survived (n = 29) or died (n = 25). Differences were calculated as discharge value – admission value.

Item	Reference values	Sample	Local Inflamm.	SIRS/sepsis survivors	SIRS/sepsis Non-survivors
N			42	29	25
Fe	80-180 µg/dL	Admission	89.5 ± 6.17a	66.4±7.82b	63.1 ± 8.85b
		Discharge or death	88.1 ± 5.57a	89.2 ± 9.06a	65.7 ± 8.81b*
		Variation	-1.4b	22.8a	2.5 b*
Alb	2.6-3.3 g/dL	Admission	2.52 ± 0.062a	1.95±0.071b	1.87 ± 0.113b
		Discharge or death	2.47 ± 0.068a	2.05 ± 0.068b	1.84 ± 0.108c*
		Variation	-0.05	0.10	-0.03
CRP	<35 mg/L	Admission	108.2 ± 10.82b	157.9±14.76a	173.0 ± 16.95a
		Discharge or death	84.9 ± 7.82b	90.8 ± 14.76b	168.9 ± 16.95a
		Variation	-23.3b	-67.1a	-4.1 c*
Fib	200-400 mg/dL	Admission	553 ± 41.7	489 ±44.5	511 ± 46.3
		Discharge or death	517 ± 42.0	420 ± 33.5	497 ± 47.1
		Variation	-36	-69	-14

Plasma iron (Fe), Albumin (Alb), C-reactive protein (CRP), Fibrinogen(Fib)

Table 5. Changes in Fe, albumin, CRP, and fibrinogen from admission to 48 h in the ICU in dogs that suffered local inflammation (n = 42), and dogs that suffered SIRS/sepsis and survived (n = 29) or died (n = 25). Differences were calculated as 48h value – admission value.

Item	Local Inflammation	SIRS/sepsis survivors	SIRS/sepsis Non-survivors	P-value
Albumin (Alb), g/dL	-0.05 ± 0.193	0.00 ± 0.254	0.01 ± 0.156	0.349
Plasma Iron (Fe), µg/dL	-0.7 ± 25.19 ^b	15.6 ± 26.65 ^a	-0.6 ± 14.11 ^b	0.009
C-reactive protein (CRP), mg/L	-17.7 ± 51.32 ^b	-45.8 ± 65.29 ^c	-1.2 ± 44.57 ^a	0.011
Fibrinogen (Fib), mg/dL	-10 ± 115.6	-56 ±135.7	-25 ± 111.1	0.298

AUC-ROC, area under the receiver operating characteristic curve, CI, confidence interval.

References

1. Fransson BA, Lagerstedt AS, Bergstrom A, et al. C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *J Vet Emerg Crit Care* 2007; 17(4):373–381.
2. Laforcade AM, Freeman LM, Shaw SP, et al. Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. *J Vet Intern Med* 2003; 17(5):674–679.
3. Gebhardt C, Irschbereger J, Rau S et al. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *J Vet Emerg Crit Care* 2009; 19(5):450-458.
4. Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005; 34(2):85–99.
5. Yamamoto S, Shida T, Miyaji S, et al. Changes in serum Creactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Vet Res Com* 1993; 1(2):85–93.
6. Feldman BF, Kaneko JJ. The anemia of inflammatory disease in the dog (I). The nature of the problem. *Vet Res Commun* 1981; 4(4):237–252.
7. Cunietti E, Chiari MM, Monti M, et al. Distortion of iron status indices by acute inflammation in older hospitalized patients. *Arch Gerontol Geriatr* 2004; 39(1):35–42.
8. Smith ES. Iron metabolism and its disorders. In: Kaneko JJ, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. San Diego, CA: Academic Press; 1997, pp. 223–240.
9. Yamamoto S, Shida T, Okimura T, et al. Determination of Creactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test. *Vet Q* 1994; 16(2):74–77.
10. Eckersall PD. The time is right for acute phase protein assays. *Vet J* 2004; 168(1):3–5.
11. Murata H, Shimada N, Yosioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J* 2004; 168(1): 28–40.

12. Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U, et al. Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. *J Vet Intern Med* 2005; 19(6):865–870.
13. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29(7):1303–1310.
14. Danai P, Martin GS. Epidemiology of sepsis: recent advances. *Curr Infect Dis Rep* 2005; 7(5):329–334.
15. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348(16):1546–1554.
16. Marx G, Schuerholz T, Reinhart K. New approaches to intensive care for sepsis. *Der Chirurg* 2005; 76(9):845–855.
17. Kushner I, Mackiewicz A. The acute phase response: an overview. In: Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H, eds. *Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*. London: CRC Press; 1993:3–19.
18. Eckersall PD. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comp Haematol Int* 1995; 5:93–97.
19. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480(2-3):147-150.
20. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3):783-788.
21. Lee P, Peng H, Gelbart T et al. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(6):1906-1910.
22. Nemeth E, Tuttle M, Powelson J, Vaughn MB et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306(5704):2090-2093.

23. Verga Falzacappa MV, Muckenthaler MU. Hpcidin: iron-hormone and anti-microbial peptide. *Gene* 2005; 364:37-44.
24. Steele TM, Frazer DM, Anderson GJ. Systemic regulation of intestinal iron absorption. *IUBMB Life* 2005; 57(7):499-503.
25. Caspi D, Baltz ML, Snel F et al. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. *Immunology* 1984; 53(2):307-313.
26. Nakamura M, Takhashi M, Ohno K et al. C-reactive protein concentration in dogs with various disease. *J Vet Med Sci* 2008; 70(2):127-131
27. Caspi D, Snel FW, Batt RM et al. C-reactive protein in dogs. *Am J Vet Res* 1987; 48(6):919-921.
28. Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J et al. Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res Vet Sci* 1988; 45(1):107-110.
29. Burton SA, Honor DJ, Mackenzie AL et al. C-reactive protein concentration in dogs with inflammatory leukograms. *Am J Vet Res* 1994; 55(5):613-618.
30. Yamamoto S, Shida T, Honda M et al. Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with *Bordetella bronchiseptica* (phase I cells). *Vet Res Comm* 1994; 18:347-357
31. Otabe K, Ito T, Sugimoto T et al. C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally induced acute gastric mucosal injury. *Lab Anim* 2000; 34(4):434-438.
32. Karlsson I, Wernersson S, Ambrosen A et al. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2013
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.09.011>.
33. Eckersall PD, Ferguson J et al. Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res Vet Sci* 1988; 45(1):107-110.

34. Rey C, Los Arcos M, Concha A et al. Procalcitonin and CRP as markers of systemic inflammatory response syndrome severity in critically ill children. *Intensive Care Med* 2007; 33(3): 477-484.
35. Mazaferro EM, Rudloff E, Kirby R. Role of albumin in the veterinary critically ill patient, *J Vet Emerg Crit Care* 2002; 12(2):113-124.
36. Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed. New York: Academic Press; 1997, pp. 117–138.
37. Mischke R, Wohlsein P, Busse L, et al. Disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis in dogs with metastasized mammary carcinoma. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde* 1998; 140(12):497–505.
38. Feldman BF: Nonregenerative anemia. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine*. 6thed. St. Louis: Elsevier; 2005, pp. 1908-1917.
39. Langhorn R, Oyama M, King L. et al. Prognostic importance of Myocardial Injury in Critically ill dogs with systemic inflammation. *J Vet Inter Med* 2013; 27(4):895-903.
40. Gibbs, J, Cull W, Henderson W et al. Preoperative Serum Albumin Level as a Predictor of operative mortality and morbidity. *Arch Surg* 1999; 134(1): 36-42.
41. Lowrie EG, Lew NL: Death risk in hemodialysis patients:the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15(5):458–482.
42. Fuhrman P, Charney P, Mueller CM. Hepatic proteins and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(8):1258–1264.
43. Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, Rosales L, Levin NW, Mitch WE, HEMO Study Group NIDDK: Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 65(4):1408–1415.

44. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V et al. C-reactive protein predicts all cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35(3): 469–476.
45. Castelli GP, Pognani C, Meisner M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 2004; 8(4):234–242.

Discusión

Discusión

Los resultados de esta tesis confirman que la albúmina desempeña un papel destacado en la regulación del equilibrio ácido-base en el paciente crítico y que puede resultar útil en la evaluación diagnóstica y el pronóstico de los pacientes con SIRS/sepsis en combinación con otros biomarcadores de inflamación como el hierro sérico.

Atendiendo a los resultados obtenidos en el primero de los estudios, en el paciente crítico hipoalbuminémico, la interpretación de los desequilibrios ácido-base puede variar en función del método de evaluación utilizado, tradicional o cuantitativo. Sin embargo, también en función del método utilizado puede variar la capacidad de detección de tales desequilibrios y la capacidad de detección de patrones de presentación atribuibles a la tipología propia de cada enfermedad.

El método tradicional se utiliza habitualmente en el ámbito de la medicina veterinaria, sin embargo tiene limitaciones importantes: puede resultar impreciso cuando se aplica en pacientes hipoproteinémicos o con desequilibrios electrolíticos importantes; asume la explicación de cualquier desequilibrio en base a dos variables dependientes (pH y HCO_3^-) y una independiente (pCO_2) cuando en realidad éstas están íntimamente relacionadas; asume mecanismos de compensación difícilmente cuantificables en pacientes con patología compleja o múltiple; clasifica los desequilibrios en un número limitado de categorías; y finalmente, las conclusiones obtenidas no contribuyen a orientar el manejo o la estrategia terapéutica del paciente en cuestión, en muchas ocasiones.

A pesar de que el rol de la albúmina en la regulación del equilibrio ácido-base está ampliamente referenciada en la bibliografía^{23,54-56,107} y los desequilibrios en esta proteína son habituales en el paciente crítico,¹⁸ tradicionalmente se ha ignorado este aspecto y por ende sus posibles implicaciones en la evaluación ácido-base de este tipo de pacientes. La utilización de métodos de interpretación que tienen en cuenta este aspecto puede contribuir a mejorar la

evaluación y el seguimiento clínico de este tipo de pacientes, más si cabe atendiendo a los resultados obtenidos en nuestro estudio y el bajo índice de coincidencia entre métodos. En nuestro estudio la interpretación mediante el método tradicional y el cuantitativo sólo resultó coincidente en 32 de los 105 pacientes estudiados ($\kappa < 0.20$).

Considerando la tipología de pacientes hipoalbuminémicos sometidos a estudio y atendiendo a la interpretación de los desequilibrios encontrados según el método tradicional, las alteraciones más frecuentemente detectadas fueron desórdenes simples (51,4%), mayoritariamente acidosis metabólica (84,7%) asociada a elevación del desfase aniónico o AG (acidosis orgánica) y, en menor porcentaje desequilibrios de tipo respiratorio, alcalosis o acidosis respiratoria.

Atendiendo a la tipología de enfermedad subyacente en las categorías estudiadas no se detectaron diferencias siendo la acidosis metabólica el desequilibrio más comúnmente detectado en pacientes con desequilibrios simples y la combinación de acidosis metabólica y respiratoria simultáneas los más frecuentes en pacientes con desequilibrios mixtos. Únicamente el grupo de pacientes con patología renal presentó un mayor porcentaje de casos con acidosis metabólica y alcalosis respiratoria simultánea no compensatoria (desequilibrios mixtos).

En la bibliografía médica, la disminución del pH sanguíneo o acidemia se ha descrito como un hallazgo frecuente en el paciente crítico.¹⁰⁸ Del mismo modo, la asociación entre acidosis metabólica y enfermedad también ha sido descrita en la bibliografía, tanto médica^{58,109} como veterinaria.¹¹⁰ Aunque los resultados de nuestro estudio coinciden con tales hallazgos cabe destacar, en nuestro caso, la elevada incidencia de pacientes con valores de pH sanguíneo dentro del rango de referencia, es decir, en la normalidad. En opinión de los autores, en el paciente crítico hipoalbuminémico el pH sanguíneo puede depender de fenómenos de compensación difícilmente cuantificables pero también del efecto neto resultante de múltiples

y complejos desórdenes, tanto de origen respiratorio como metabólico, cuya influencia final en el pH puede llegar a ser divergente. Por este motivo y dada la buena correlación ($r = 0,98$, $p < 0,001$) existente entre los valores de HCO_3^- y SBE, ambos parámetros fueron utilizados en nuestro estudio para cuantificar el componente metabólico y ampliar la capacidad de detección de pacientes con acidosis metabólica.¹¹¹ Para caracterizar el disturbio metabólico en este tipo de pacientes se determinó el desfase aniónico o AG. En el método tradicional el AG se utiliza como prueba indirecta del incremento en la concentración plasmática de diversos aniones no medidos (orgánicos e inorgánicos), por lo que puede ayudar a determinar el origen de la acidosis metabólica. Sin embargo, dada la documentada influencia de la albúmina en este parámetro,⁵⁵ la contribución de otros aniones no medidos como el lactato, cetonas, etc. puede resultar imposible de cuantificar en condiciones de hipoalbuminemia concurrente.^{55,58} Cabe destacar que atendiendo a la interpretación ácido-base según el método tradicional, el 20% (21/105) del conjunto de pacientes sometidos a estudio presentó valores de pH, pCO_2 , SBE y AG dentro del rango de referencia, es decir, fueron considerados inicialmente carentes de alteración alguna en su estatus ácido-base. El cálculo del AG corregido por albúmina (AG_{alb}) permitió la detección de desequilibrios metabólicos en la mayoría de éstos resultando el número final de pacientes carentes de anomalías ácido-base similar en ambos métodos.

El método cuantitativo se utiliza desde hace años en medicina intensiva;¹¹² sin embargo su utilización clínica en la medicina veterinaria de pequeños animales hoy es todavía anecdótica. De hecho y en conocimiento del autor, no existen estudios que comparen ambos métodos en perros enfermos críticos e hipoalbuminémicos. Esta aproximación teóricamente ofrece ventajas en este tipo de pacientes dado que sí permite una evaluación detallada de los desequilibrios presentes cuando las concentraciones de electrolitos, albúmina y/o fósforo están alteradas. Sin embargo, requiere la medición de múltiples parámetros, el uso de ecuaciones complejas, ecuaciones específicas para cada especie animal y un mayor tiempo para completar la evaluación. En el presente estudio, la alteraciones más frecuentes

detectadas utilizando el método cuantitativo fueron de tipo complejo (58,1%), mayormente acidosis metabólica asociada a incrementos en el desfase de iones fuertes o SIG (74,3%), alcalosis metabólica debida a disminución en la concentración de ácidos débiles no volátiles o A_{tot} (33,3%) y, en menor medida alcalosis respiratoria.

La primera variable de la aproximación cuantitativa es la diferencia de iones fuertes o SID, cuyos cambios pueden atribuirse mayormente a variaciones en el contenido de agua libre plasmática o variaciones en la concentración del cloro. Aunque no fue posible detectar diferencias entre el conjunto de pacientes hipoalbuminémicos y el grupo control por lo que hace referencia a este parámetro, sí se detectaron diferencias significativas entre categorías o grupos de enfermedad. En nuestro estudio, los desequilibrios en el pH vinculados al SID se detectaron fundamentalmente en el grupo de pacientes con patología renal o gastrointestinal, y mayormente vinculados a variaciones en la concentración de cloro. El grupo renal mostró la mayor incidencia de acidosis por SID vinculada a hipercloremia y caracterizada por un desfase de cloro disminuido, un ratio $[Cl^-]/[Na^+]$ elevado y una diferencia $[Na^+]-[Cl^-]$ disminuida. La acidosis metabólica asociada a la insuficiencia renal en pacientes críticos se ha asociado a procesos ácido-base metabólicos complejos y múltiples, incluyendo el efecto acidificante del cloro, de los aniones no medidos, del fósforo, y el efecto alcalinizante de la propia hypoalbuminemia.¹¹³ Atendiendo a los resultados de la evaluación cuantitativa en esta categoría de pacientes, es posible corroborar la complejidad de tales desequilibrios encontrada en dicha categoría de pacientes críticos en nuestro estudio. En el grupo de pacientes con patología gastrointestinal, la alcalosis por SID se asoció a la existencia de hipocloremia, probablemente vinculada a pérdidas de fluidos con diferencia de iones fuertes baja o negativa (vómito de origen gástrico). En este grupo, a pesar de la sintomatología detectada y la significativa pérdida de fluidos extracelulares por vía gastrointestinal, ningún paciente mostró alcalosis por SID asociada a pérdidas de agua libre, pérdidas hipotónicas o hipernatremia.

La segunda variable utilizada en el método cuantitativo es la concentración total de ácidos débiles no volátiles o A_{tot} , la cual se ve mayormente afectada por cambios en la concentración de albúmina y en menor medida por la de globulinas plasmáticas y fosfatos. La alcalosis por A_{tot} o hipoproteinéica es un hallazgo frecuente en el paciente crítico humano.^{58,114-117} Sin embargo, en nuestro estudio el número de pacientes con alcalosis por A_{tot} fue relativamente pequeño (35/105; 33,3%) y muchos de los pacientes sometidos a estudio presentaron valores normales de A_{tot} a pesar de la hipoalbuminemia. En el grupo de pacientes con patología renal, la presencia concomitante de hiperfosfatemia y/o hiperglobulinemia asociadas a la propia tipología de enfermedad renal (infecciosa, neoplásica, o inmunomediada) podría explicar la baja incidencia de disturbios asociadas a este parámetro.^{113,118} Cabe destacar que el grupo de pacientes con patología gastrointestinal mostró el mayor porcentaje de alcalosis por A_{tot} (11/15; 73,4%), probablemente debido a la ausencia de la hiperfosfatemia, y a valores medios de proteínas totales ($4,39 \pm 1,316$ g/dL) por debajo del de otros grupos estudiados. En cualquier caso, en el presente estudio la evaluación mediante el método cuantitativo permitió la identificación de procesos de alcalosis metabólica vinculados al A_{tot} que de otro modo no hubieran sido identificados por el método tradicional (33,3% vs 5,7%). Aunque aquellos pacientes que presentaban hipoalbuminemia severa (<2 g/dL) mostraron valores de A_{tot} más bajos, sorprendentemente el valor medio de pH también fue el más bajo. El elevado porcentaje de pacientes con acidosis por desfase de iones fuertes (SIG) simultánea (27/33; 81,8%) podría explicar este hallazgo. Resultados similares se han descrito en la bibliografía médica donde la hipoalbuminemia se ha documentado como una causa común de alcalosis metabólica en pacientes críticamente enfermos, a pesar de la presencia de acidosis por SIG simultánea.^{117,119}

La tercera variable utilizada en el método cuantitativo es el desfase de iones fuertes o SIG. La determinación del SIG proporciona una estimación de la diferencia de cargas existente entre los aniones e iones fuertes no medidos. La gran mayoría de pacientes hipoalbuminémicos

estudiados presentaron valores de SIG o AG_{alb} por debajo o por encima del rango de referencia, respectivamente. Como se ha mencionado con anterioridad en el texto, la albúmina conforma la mayoría de la carga negativa vinculada a los tampones o ácidos débiles no volátiles presentes en plasma (A_{tot}) y tanto el cálculo del SIG como el del AG_{alb} incorporan esa contribución. Por tanto, a diferencia del AG, el SIG y el AG_{alb} permiten estimar con mayor precisión la carga de aniones no medidos en animales con hipoproteinemia o hiperfosfatemia.¹¹³ En nuestro estudio, se documentó la elevada correlación existente entre los valores de SIG y AG_{alb} ($r = 0,93$, $p < 0,001$). Así pues, nuestros resultados coinciden con los descritos en la bibliografía humana, donde la utilización del AG_{alb} podría resultar una alternativa válida para la detección de trastornos ocultos de tipo en pacientes con hipoalbuminemia.^{58,120,121}

La acidosis por SIG viene definida por el aumento en la concentración de aniones fuertes no medidos tales como lactato, cetoácidos, piruvato, citrato, acetato, urato, gluconato, sulfato, etc.^{122,123} Este tipo de trastorno metabólico ha sido reportado en seres humanos con patologías o situaciones de riesgo vital tales como la sepsis grave, el *by-pass* coronario, la cetoacidosis diabética y la insuficiencia renal aguda. Sin embargo su valor pronóstico negativo sigue siendo controvertido atendiendo a la bibliografía existente en la actualidad.^{63,124,125}

En particular y haciendo referencia al grupo de pacientes con SIRS/sepsis, la evaluación mediante el método cuantitativo permitió detectar múltiples y complejos desequilibrios ácido-base. Este grupo fue el que presentó la mayor variabilidad y complejidad de desequilibrios ácido-base destacando, en comparación al resto de categorías de enfermedad estudiadas, el mayor porcentaje (23/36; 63,9%) de desequilibrios vinculados a la hipoalbuminemia (alcalosis por A_{tot}) y/o a la presencia de aniones fuertes no medidos (acidosis por SIG).

En medicina humana el paciente séptico constituye una tipología frecuente de paciente crítico^{126,127} en la que un manejo adecuado y protocolizado puede condicionar menores tasas de

morbilidad y mortalidad. En la clínica de pequeños animales, y en concreto en el ámbito de la medicina intensiva veterinaria esta tipología de paciente también es frecuente. De hecho constituye una de las categorías principales en nuestro primer estudio y, de hecho, constituye el objetivo del segundo estudio. Atendiendo a los resultados obtenidos en este segundo trabajo es posible afirmar que la progresión de la concentración de albúmina durante la estancia en la UCI de pacientes con SIRS/sepsis puede ofrecer información del pronóstico si se combina con otros biomarcadores de mayor sensibilidad y especificidad como la CRP o el hierro sérico.

Como se ha mencionado con anterioridad en la introducción, la hipoalbuminemia se describe con frecuencia en pacientes humanos con inflamación sistémica o sepsis. En medicina veterinaria, ésta ha sido reportada en pacientes con SIRS principalmente asociada a disminución en su síntesis, pérdidas intravasculares vinculadas a incrementos de la permeabilidad capilar, desnaturalización en los focos de inflamación, o bien a fenómenos de degradación vinculados a diversas sustancias tóxicas.¹⁸

En la categoría de pacientes estudiada, a pesar de su teórica inespecificidad como biomarcador inflamatorio, se ha podido correlacionar de forma inversa la concentración de la albúmina en la admisión con la severidad del fenómeno inflamatorio. Aunque el patrón de respuesta de fase aguda puede diferir en función de la condición inflamatoria, los cambios en marcadores como la albúmina pueden ser de utilidad para el clínico ya que no sólo pueden contribuir a diagnosticar y caracterizar el proceso inflamatorio sino también confirmar la necesidad de intervención terapéutica. Así pues, en el segundo estudio, se comparó la utilidad de hierro plasmático en comparación a otros marcadores tradicionales de inflamación como la CRP, la albúmina y el fibrinógeno, a fin y efecto de diagnosticar de forma precoz y caracterizar el estado y evolución del fenómeno inflamatorio. Los resultados de este segundo estudio confirman que la concentración de hierro sérico puede utilizarse como biomarcador de la

respuesta inflamatoria en pacientes caninos con inflamación sistémica o sepsis. Atendiendo a los resultados obtenidos la concentración de hierro en plasma es significativamente menor en los perros con inflamación sistémica y la progresión de las concentraciones de hierro durante su estancia en la UCI puede reflejar la evolución del propio proceso inflamatorio, independientemente de la enfermedad subyacente. Nuestros resultados sugieren además que la falta de normalización de hierro plasmático durante el período de hospitalización puede predecir un resultado pronóstico final negativo. En conocimiento de los autores, este es el primer estudio clínico donde se describe la incidencia de hipoferremia en perros con SIRS/sepsis.

En el paciente con SIRS/sepsis la respuesta de fase aguda abarca varios procesos fisiológicos inespecíficos, variables y complejos que acontecen poco después de la aparición de la infección o inflamación, y que incluye muchos y variados efectos sistémicos metabólicos que pueden modificar la concentración plasmática de muchas proteínas de fase aguda (APP) y oligoelementos (zinc, cobre, y hierro).^{73,128} En particular, la disminución en las concentraciones de hierro acontece de forma muy rápida y con frecuencia en menos de 24 horas de iniciado el proceso inflamatorio sistémico. El proceso que explica la hipoferremia está mediado por la acción de la hepcidina. Esta sustancia, que se produce en el hígado en respuesta al incremento de citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6),¹²⁹ induce la disminución en la expresión de ferroportina con lo que disminuye la absorción de hierro, disminuye la liberación desde macrófagos y hepatocitos^{130,131} y se inhibe el traspaso de hierro desde el compartimento celular al plasmático.^{132,133} La disminución progresiva de en la entrada de hierro al compartimento plasmático y la utilización continuada del hierro unido a transferrina explican la hipoferremia resultante.¹³⁴

Todas las variables evaluadas en el segundo estudio fueron consideradas indicadores específicos de inflamación cuando se compararon perros enfermos y sanos, pero sólo el hierro,

la albúmina, y las concentraciones de CRP fueron significativamente diferentes entre pacientes con inflamación local y sistémica. De acuerdo con el análisis de las curvas ROC, los tres marcadores mostraron una capacidad de diagnóstico importante por lo que respecta a la diferenciación entre pacientes con respuesta inflamatoria local y pacientes con inflamación sistémica. Atendiendo a los resultados obtenidos, la determinación combinada de albúmina y hierro resultó ser la mejor opción para corroborar el diagnóstico clínico de enfermedad inflamatoria sistémica en la población canina estudiada.

Por lo que respecta a la evolución temporal de los marcadores estudiados desde el ingreso hasta el alta, se detectaron diferentes tendencias entre pacientes con SIRS/sepsis supervivientes y no supervivientes. Aunque la concentración de albúmina se incrementó desde el ingreso hasta el alta en los pacientes supervivientes, las concentraciones de albúmina al alta no se recuperaron por completo, y no llegaron a los niveles presentes en el grupo de pacientes con inflamación local. Los pacientes no supervivientes no mostraron incrementos en la concentración de albúmina plasmática durante la hospitalización y su concentración media final fue inferior a 2 g/dL, valor que se ha asociado con mayores tasas de morbilidad y mortalidad en perros críticamente enfermos.¹⁸ En este tipo de pacientes se considera que la disminución en los niveles de albúmina viene mayormente condicionada por la propia intensidad de la respuesta de fase aguda^{135,136} y en menor medida por otros factores como el estado nutricional del paciente.¹³⁷⁻¹⁴⁰ Aunque en medicina humana la albúmina es uno de los parámetros con valor predictivo de mortalidad más ampliamente referenciados en la bibliografía médica, hasta la fecha y en conocimiento del autor, no existen estudios que aborden este tema en la literatura veterinaria.

En la bibliografía médica veterinaria se ha descrito la existencia de correlación entre la disminución en las concentraciones de otros biomarcadores como la CRP y la recuperación del paciente.¹⁴¹ Aunque sería necesario llevar a cabo estudios al respecto, atendiendo a los

resultados obtenidos y a recientes publicaciones en la bibliografía veterinaria,¹⁴² la determinación de la CRP podría ofrecer información pronóstica en las primeras 48 horas tras su admisión en la UCI. De modo semejante en nuestro estudio, en aquellos pacientes con SIRS/sepsis que sobrevivieron la concentración del hierro denotó cambios apreciables (incremento) de forma paralela a la mejora en la condición clínica. Dichos cambios se observaron, también y de forma precoz, ya en las primeras 48 horas de hospitalización. Aunque la hipoferremia se ha descrito en pequeños animales fundamentalmente vinculada a deficiencias de hierro, hipotiroidismo, enfermedad renal, y estados inflamatorios crónicos,¹⁴³ este es el primer estudio clínico donde se documentan la utilidad diagnóstica y las implicaciones pronósticas de la hipoferremia en perros con SIRS/sepsis.

Conclusiones

Conclusiones

1. En pacientes críticos e hipoalbuminémicos el método tradicional tiene una correlación baja con el modelo cuantitativo, hasta el punto en que hay alteraciones que pasan desapercibidas si se emplea sólo el primero.
2. En el paciente crítico e hipoalbuminémico se producen desequilibrios ácido-base que sólo es posible caracterizar mediante el método cuantitativo.
3. En el paciente crítico e hipoalbuminémico que éste presente alcalosis o acidosis depende fundamentalmente de la patología subyacente.
4. En el paciente crítico e hipoalbuminémico la evaluación del estatus ácido-base es más completa cuando se aplica el método cuantitativo, pero su utilidad clínica está en proceso de validación.
5. En el paciente crítico con SIRS/sepsis la disminución de la concentración de hierro plasmático (hiposideremia) es un indicador sensible de inflamación local y sistémica, así como lo es la hipoalbuminemia.
6. En el paciente crítico con SIRS/sepsis, la utilización combinada de las concentraciones plasmáticas de hierro plasmático, albúmina y CRP mejora la sensibilidad de la detección del proceso inflamatorio.

7. En el paciente crítico con SIRS/sepsis la disminución de la concentración plasmática de CRP y el incremento de la ferremia durante su hospitalización es un indicador pronóstico favorable.

8. En pacientes críticos con SIRS/sepsis la tasa de mortalidad es mayor cuando la concentración de albúmina no supera los 2 g/dL durante su estancia en la UCI.

9. En pacientes críticos con SIRS/sepsis las variaciones en las concentraciones plasmáticas de CRP, hierro y albúmina, durante el periodo de hospitalización, permiten monitorizar la evolución del cuadro inflamatorio y aportan datos con valor pronóstico.

Resumen

Resumen

Las alteraciones del equilibrio ácido-base son frecuentes en la medicina de pequeños animales y tales desequilibrios tienen implicaciones tanto diagnósticas como terapéuticas y pronósticas en el paciente crítico. A pesar de que la hipoalbuminemia es frecuente en este tipo de pacientes y se sabe la albúmina es un ácido débil y por tanto puede influir en el componente metabólico del equilibrio ácido-base, tal condición con frecuencia no se tiene en cuenta durante la evaluación del equilibrio ácido-base en este tipo de pacientes.

El principal objetivo del primer estudio fue comparar el método tradicional y el cuantitativo para la evaluación de los desequilibrios ácido-base en perros críticamente enfermos e hipoalbuminémicos. Este estudio prospectivo y observacional incluyó 105 pacientes críticos y 135 pacientes sanos como grupo control. Se obtuvieron muestras de sangre venosa mediante punción yugular de cada paciente al ingreso para determinar: TP, Alb, BUN, Glu, hematocrito, Na^+ , Cl^- , K^+ , P_i , pH, pCO_2 , HCO_3^- , AG, AG_{alb} y/o $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$, SBE, SID, A_{tot} y SIG. Los pacientes fueron divididos en dos grupos atendiendo a la gravedad de la hipoalbuminemia: leve (Alb = 2,1 a 2,5 g/dl) y grave (Alb \leq 2,0 g/dL). De acuerdo con la interpretación según el método tradicional, los desequilibrios más frecuentes fueron los desequilibrios simples (51.4 %) principalmente acidosis metabólica (84,7 %), en la mayoría de los casos asociada a acidosis orgánica (AG elevado). Sin embargo, según el método cuantitativo la mayoría de los desequilibrios fueron clasificados como complejos (58.1 %) siendo la acidosis por SIG (74,3 %) y la alcalosis por A_{tot} alcalosis (33,3 %) los desequilibrios ácido-base más frecuentes.

En base a los resultados del primer estudio, podemos concluir que la concordancia entre métodos de interpretación del equilibrio ácido-base es pobre y que muchos de los desequilibrios presentes sólo son detectados mediante el modelo cuantitativo. Además, tales desequilibrios varían de acuerdo a la gravedad de la hipoalbuminemia y la tipología de enfermedad de cada paciente, incluyendo el paciente con SIRS/sepsis.

En medicina humana, el SIRS es una condición patológica frecuente en el paciente crítico comúnmente asociada a elevadas tasas de mortalidad. Sin embargo, en medicina veterinaria las referencias sobre la incidencia de este fenómeno y la utilidad diagnóstica y pronóstica de biomarcadores son escasas.

El principal objetivo del segundo estudio fue determinar el valor diagnóstico y pronóstico del hierro plasmático vs otros biomarcadores tradicionales de inflamación como la albúmina, CRP y fibrinógeno, no sólo al ingreso sino también durante la estancia en UCI de pacientes con SIRS/sepsis. Este estudio observacional prospectivo incluyó un total de 116 pacientes: 54 perros con SIRS/sepsis, 42 perros con inflamación local y 20 perros clínicamente sanos, como grupo control. Las muestras de sangre fueron tomadas durante la admisión en todos los grupos de estudio, y luego en días alternos hasta el alta o el fallecimiento del paciente, en ambos grupos de inflamación. Al ingreso, los perros con SIRS mostraron concentraciones de hierro plasmático significativamente menores ($65 \pm 5,8$ mg/dL, $p = 0,001$) que las mostradas por perros con inflamación local ($89,5 \pm 6,2$ mg/dL, $p = 0,001$). Tanto las concentraciones de hierro plasmático, como las de albúmina y CRP fueron capaces de discriminar entre pacientes con SIRS/sepsis y pacientes con inflamación local, con AUC para las curvas ROC de 0,679, 0,834, y 0,704, respectivamente. Los valores de estas variables en la admisión no fueron capaces de discriminar, en el grupo de pacientes con SIRS/sepsis, entre supervivientes y no supervivientes. Sin embargo, el incremento en la concentración de hierro plasmático y el descenso en la concentración de CRP desde el ingreso al alta sí fueron significativamente mayores en los pacientes con SIRS/sepsis supervivientes ($22,8$ vs $2,51$ mg/dL, $p = 0,021$ para el hierro; y $-67,1$ vs $-4,1$ mg/L, $p = 0,002$ respectivamente para la CRP). Al alta clínica, las concentraciones de hierro y CRP en el grupo de pacientes con SIRS/sepsis supervivientes fueron similares a las obtenidas en el grupo de pacientes con inflamación local.

En base a los resultados del segundo estudio podemos concluir que la hipoferremia es un marcador sensible de inflamación sistémica en perros y que el aumento en las concentraciones de hierro durante el periodo de hospitalización de pacientes con SIRS/sepsis puede asociarse a un mejor pronóstico. Tales resultados sugieren que la concentración de hierro en combinación con otros biomarcadores de inflamación, tales como la CRP y albúmina podrían ser utilizados para monitorizar la evolución del proceso inflamatorio en estos pacientes.

Summary

Summary

Acid-base disturbances have been reported in the veterinary literature concerning the field of the small animal intensive care. Such disorders have diagnostic, therapeutic, and prognostic implications in terms of morbidity and mortality in such population. Besides albumin is a weak acid that can affect pH and plays a key role in the metabolic component of the acid-base balance often is not taken into account during the acid-base assessment.

The main goal of the first study was to compare the traditional and the quantitative approaches for the assessment of acid-base imbalances in hypoalbuminemic dogs. This study was designed as a prospective observational clinical study and included the evaluation of 105 critically ill patients and 135 healthy patients as controls. Jugular venous-blood samples were collected from each patient on admission to determine: TP, Alb, BUN, Glu, hematocrit, Na^+ , Cl^- , K^+ , P_i , pH, pCO_2 , HCO_3^- , AG, AG_{alb} and/or $\text{AG}_{\text{alb-phos}}$, SBE, SID, A_{tot} , and SIG. Patients were divided into two groups according to the severity of hypoalbuminemia: mild hypoalbuminemia (Alb = 2.1 to 2.5 g/dL) and severe hypoalbuminemia (Alb \leq 2.0 g/dL). According to the HH approach most frequent imbalances were simple disorders (51.4 %) mainly metabolic acidosis (84.7%), in most cases associated to a high AG acidosis. However, when using the quantitative method 58.1% were complex disorders, and SIG acidosis (74.3 %) and A_{tot} alkalosis (33.3 %) were the most frequent acid-base imbalances.

The second study allowed us to conclude that the agreement between the traditional and quantitative methods of interpretation of acid-base balance was poor, and many imbalances were detected using the quantitative approach but would remain undetected using the traditional approach to acid-base status. Moreover, these alterations were different according to the severity of hypoalbuminemia and characteristics of the disease in each hypoalbuminemic patient, especially in SIRS/septic patients.

In humans, SIRS is relatively frequent condition and is associated with high mortality rates. However, data on the incidence of SIRS and the usefulness of biomarkers in veterinary medicine is scarce.

The main goal of the second study was to determine the diagnostic and prognostic value of plasma iron vs the inflammatory markers albumin, CRP and fibrinogen on admission and over the ICU stay of dogs with SIRS. This study was designed as prospective observational study and included 116 client-owned dogs: 54 dogs with SIRS/sepsis, 42 with local inflammation and 20 clinically healthy dogs as a control group. Blood samples were taken on admission in all study groups, and then on alternate days until discharge or death in both inflammation groups. On admission, dogs with SIRS had significantly lower plasma iron ($65 \pm 5.8 \mu\text{g/dL}$, $p=0.001$) concentrations than dogs with local inflammation ($89.5 \pm 6.2 \mu\text{g/dL}$, $p=0.001$). Plasma iron, albumin, and CRP were able to separate dogs in the SIRS/sepsis group from those presenting local inflammation with AUCs for the ROCs curves of 0.679, 0.834, and 0.704 respectively.

The admission values for these variables did not separate survivors and non survivors within the SIRS/sepsis group. However, the increase in iron and the decrease in CRP, from admission to discharge, was higher in survivors than in non-survivors within the SIRS/septic group (22.8 vs. $2.51 \mu\text{g/dL}$ respectively, $p = 0.021$ for iron; -67.1 vs. -4.1 mg/L respectively, $p = 0.002$ for CRP), resulting in discharge iron and CRP concentrations for survivors similar to those in the local inflammation group.

The second study allowed us to conclude that hypoferremia is a sensitive marker of systemic inflammation in dogs. In this study, the increase in iron concentrations during the hospitalization period of SIRS/septic dogs was associated to a better prognosis, suggesting that plasma iron in combination with other biomarkers of inflammation such as CRP and albumin might be used to monitor the inflammatory process.

Apéndices

Apéndice 1

Kirby's Rule of 20

- 1) Fluid balance
- 2) Oncotic pull
- 3) Glucose
- 4) Electrolyte and acid-base balance
- 5) Oxygenation and ventilation
- 6) Mentation
- 7) Perfusion and blood pressure
- 8) Heart rate, rhythm, and contractility
- 9) Albumin levels
- 10) Coagulation
- 11) Red blood cell and hemoglobin concentration
- 12) Renal function
- 13) Immune status, antibiotic dosage and selection, white blood count
- 14) Gastrointestinal motility and metabolism
- 15) Drug dosages and metabolism
- 16) Nutrition
- 17) Pain control
- 18) Nursing care and patient mobilization
- 19) Wound care and bandage change
- 20) Tender loving care

Extraído de:

Kirby R: Septic shock. In Bonagura JD, editor: Current veterinary therapy XII, Philadelphia, 1995, Saunders.

Apéndice 2

Values (mean \pm SD) of Na⁺, K⁺, Cl⁻, Alb, TP, Pi, pH, PvCO₂, HCO₃⁻, SBE, AG, SID_m, A_{tot}, and SIG levels.

	CT (135)	SR (36)	HE (8)	RE (25)	GI (15)	EN (21)	P-valor
Na ⁺ , mM	144 \pm 2.9 ^{ab}	147 \pm 6.0 ^a	140 \pm 8.11 ^b	146 \pm 8.8 ^{ab}	143 \pm 6.04 ^{ab}	146 \pm 11.2 ^{ab}	0.006
K ⁺ , mM	3.99 \pm 0.412 ^b	3.92 \pm 0.878 ^b	4.46 \pm 0.950 ^{ab}	4.87 \pm 1.868 ^a	3.97 \pm 0.681 ^b	3.88 \pm 1.234 ^b	<0.001
Cl ⁻ , mM	116 \pm 4.1 ^{bc}	119 \pm 7.7 ^{ab}	115 \pm 6.2 ^{bc}	123 \pm 11.2 ^a	111 \pm 7.30 ^c	120 \pm 11.3 ^{ab}	<0.001
Alb, g/dL	3.57 \pm 0.576 ^a	1.98 \pm 0.375 ^b	1.96 \pm 0.580 ^b	1.98 \pm 0.320 ^b	1.96 \pm 0.389 ^b	2.12 \pm 0.260 ^b	<0.001
TP, g/dL	6.85 \pm 1.032 ^a	5.24 \pm 1.73 ^{bc}	6.07 \pm 2.38 ^{ab}	6.79 \pm 1.281 ^a	4.39 \pm 1.316 ^c	6.35 \pm 1.688 ^a	<0.001
P _i , mg/dL	4.83 \pm 1.475 ^b	5.07 \pm 2.248 ^b	4.79 \pm 1.888 ^b	11.86 \pm 5.222 ^a	4.63 \pm 1.264 ^b	3.69 \pm 2.311 ^b	<0.001
pH	7.42 \pm 0.044 ^a	7.31 \pm 0.122 ^{bc}	7.34 \pm 0.086 ^{abc}	7.31 \pm 0.115 ^{bc}	7.38 \pm 0.100 ^{ab}	7.25 \pm 0.115 ^c	<0.001
PvCO ₂ , mmHg	33.3 \pm 5.04 ^a	34.1 \pm 8.55 ^a	27.6 \pm 6.23 ^{ab}	29.0 \pm 7.79 ^b	35.3 \pm 6.04 ^a	30.9 \pm 7.14 ^{ab}	0.001
HCO ₃ ⁻ , mEq/L	21.2 \pm 2.52 ^a	17.8 \pm 6.15 ^b	15.6 \pm 5.46 ^{bc}	14.7 \pm 4.80 ^c	21.3 \pm 5.61 ^{ab}	14.2 \pm 5.16 ^c	<0.001
SBE, mEq/L	-2.91 \pm 2.874 ^a	-8.2 \pm 7.78 ^b	-10.3 \pm 6.90 ^{bc}	-11.4 \pm 6.31 ^{bc}	-3.67 \pm 6.925 ^a	-13.0 \pm 6.63 ^c	<0.001
AG, mEq/L	11.1 \pm 3.27 ^b	14.7 \pm 5.36 ^a	14.1 \pm 4.85 ^{ab}	12.9 \pm 8.09 ^{ab}	14.4 \pm 2.90 ^{ab}	15.4 \pm 8.34 ^a	<0.001
AGalb, mEq/L	11.1 \pm 3.27 ^b	22.2 \pm 5.37 ^a	21.8 \pm 6.37 ^a	20.4 \pm 8.18 ^a	22.0 \pm 2.95 ^a	22.3 \pm 8.30 ^a	<0.001
AGalb-phos	11.1 \pm 3.27 ^c	21.9 \pm 5.83 ^a	21.4 \pm 6.20 ^{ab}	16.1 \pm 8.59 ^b	21.9 \pm 2.87 ^a	22.1 \pm 8.23 ^a	<0.001
SID, mM	32.3 \pm 3.72 ^{ab}	32.5 \pm 5.93 ^{ab}	29.7 \pm 3.89 ^{abc}	27.6 \pm 8.83 ^c	35.7 \pm 2.80 ^a	29.6 \pm 6.91 ^{bc}	<0.001
A _{tot-TP} , mEq/L	18.5 \pm 2.79 ^a	14.2 \pm 4.67 ^{bc}	16.4 \pm 6.42 ^{ab}	18.3 \pm 3.46 ^a	11.9 \pm 3.55 ^c	17.1 \pm 4.56 ^a	<0.001
SIG, mM	6.46 \pm 4.029 ^a	-5.38 \pm 5.744 ^b	-4.76 \pm 6.868 ^b	-3.60 \pm 8.282 ^b	-4.89 \pm 3.225 ^b	-5.64 \pm 8.585 ^b	<0.001

*SR (sepsis/SIRS group), HE (Hepatic group), RE (Renal group), GI (Gastrointestinal group), EN (Endocrine group). Na⁺, sodium; K⁺, potassium; Cl⁻, chloride; Alb, albumin; TP, total protein; Pi, inorganic phosphorus, pvCO₂, partial pressure of CO₂; HCO₃⁻, bicarbonate; SBE, standardized base excess; AG, anion gap; SID, strong ion difference; A_{tot}, non-volatile weak buffers; SIG, strong ion gap.

a,b,c,d Values with different letters are significantly different ($P < .05$).

Apéndice 3

Interpretation of acid-base balance of all hypoalbuminemic dogs (N=105) using the traditional and the quantitative approach by categories of disease..

Quantitative approach	SR	RE	EN	HE	GI		Traditional approach	SR	RE	EN	HE	GI	
Normal	3	2	4	2	0	11	Normal	1	5	3	1	0	10
Simple disorders	10	12	8	2	1	33	Simple disorders	19	9	12	6	8	54
Resp acidosis			1			1	Resp acidosis	1		1			2
SID acidosis		3	1			4	Resp alkalosis	2					2
SID alkalosis	1				1	2	Metabolic acidosis	15	9	11	6	8	49
Atot alkalosis	1					1	Metabolic alkalosis	1					1
SIG acidosis	8	9	6	2		25	Mixed disorders	16	11	7	0	7	41
Complex disorders	23	11	9	4	14	61	Resp acidosis + metabolic acidosis	11	5	6		2	24
Resp acidosis + SIG acidosis	3					3	Resp alkalosis + metabolic acidosis	4	6	1		1	12
Resp alkalosis + SIG acidosis	2	3	2	1	1	9	Resp alkalosis + metabolic alkalosis					1	1
Resp alkalosis + SID acidosis	1	1				2	Metabolic acidosis (high AG acidosis) + m.alk	1				3	4
SID acidosis + Atot alkalosis		1				1							
SID acidosis + SIG acidosis		2				2							
SID alkalosis + SIG acidosis		1	1		2	4							
Atot acidosis + SIG acidosis	2	1				3							
Atot alkalosis + SIG acidosis	10		2	1	7	20							
Resp acidosis + SID alkalosis+ SIG acidosis		1				1							
Resp acidosis + Atot alkalosis+ SIG acidosis	1		1		2	4							
Resp alkalosis+ SID acidosis+ Atot alkalosis	1					1							
Resp alkalosis+ SID acidosis+ SIG acidosis		1				1							
Resp alkalosis + Atot alkalosis+ SIG acidosis	2		2	1		5							
SID acidosis + Atot acidosis + SIG acidosis			1	1		2							149
SID alkalosis + Atot alkalosis + SIG acidosis	1				2	3							

Bibliografía

Bibliografía

1. Myake M, Okazaki M, Iwabuchi S. Isolation of a cDNA Encoding Canine Serum Albumin. Available at www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=AB090854.1 accessed October 2002.
2. Tullis JL. Albumin: Background and use. *J Am Med Assoc* 1977; 237(4):355-360.
3. Brown J. Structural origins of mammalian albumin. *Fed Proc* 1976; 35(10): 2141-2144.
4. Doweiko JP, Nompleggi DJ. Role of albumin in human physiology and pathophysiology. *J Parenter Enteral Nutr* 1991;15(2):207-211.
5. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Albumin synthesis (part one). *N Eng J Med* 1972; 286(14):748-757.
6. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Albumin synthesis (part two). *N Eng J Med* 1972; 286(15):816-821.
7. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Serum Albumin. *Hepatology* 1988; 8(2):385-401.
8. Griffel MI., Kaufman BS. Pharmacology of Colloids and crystalloids. *Crit Care Clin* 1992; 8(2):235-253.
9. Beathard GA. Albumin Abnormalities. In: Ritzman SE, Daniels JC, eds: *Serum Protein Abnormalities: Diagnostic and Clinical Aspects*. Little and Brown; 1975, pp. 173-210.
10. Kaminski MV, Haase TJ. Albumin and colloid osmotic pressure: Implications for fluid resuscitation. *Crit Care Med* 1982; 10(3):159-162.
11. Golub R, Sorrento JJ, Cantu E et al. Efficacy of albumin supplementation in the surgical intensive care unit: a prospective, randomized trial. *Crit Care Med* 1994; 22(4):613-619.

12. Emerson TE. Unique features of albumin: a brief review. *Crit Care Med* 1989; 17(7):690-694.
13. Vallner JJ. Binding of drugs by albumin and plasma protein. *J Pharm Sci* 1977; 66(4):447-465.
14. Koch-Weser J, Sellers EM. Binding of drugs to serum albumin. *N Eng J Med* 1976; 294(10):526-531
15. Doweiko JP, Nompleggi DJ. Use of albumin as a volume expander. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15(4):484-487.
16. Haupt MT, Rackow EC. Colloid osmotic pressure and fluid resuscitation with hetastarch, albumin and saline. *Crit Care Med* 1982; 10(3):159-162.
17. Starling EH. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 1896; 19(4):312-326.
18. Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *J Vet Emerg Crit Care* 2002; 12(2):113-124.
19. Jorgensen KA, Stoffersen E. Heparin like activity of albumin. *Thromb Res* 1979; 16(3-4):569-574.
20. Doweiko JP, Bistran BR. The effects of glycosylated albumin in platelet aggregation. *J Parent Ent Nutr* 1994; 18(6):516-520.
21. Holt ME, Ryall MET, Campbell AK. Albumin inhibits human polymorphonuclear leucocyte luminol-dependent chemiluminescence: evidence for oxygen radical scavenging. *Br J Exp Path* 1948; 65(2):231-241.

22. Madias NE, Cohen JJ. Acid-base chemistry and buffering. In Cohen JJ, Kassirer JF, eds: Acid-base, Boston, Little, Brown & Co; 1982, pp.16-17.
23. Peters Jr T. All about albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. San Diego, Academic Press, 1996.
24. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Albumin metabolism. *Gastroenterology* 1973; 64(2):324-337.
25. D'Angio RG. Is there a role for albumin in nutrition support? *Ann Pharmacother* 1994; 28(4):478-482.
26. Kramer GC, Harms BA, Bodai BI et al. Mechanisms for redistribution of plasma protein following acute protein depletion. *Am J Physiol* 1982; 243(5):H803-809.
27. Dixon FJ, Maurer PH, Deichmiller MP. Half-lives of homologous serum albumin in several species. *Proc Soc Exp Biol Medical* 1953; 83(2):287-288.
28. Mathews KA. The therapeutic use of 25% human serum albumin in critically ill dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38(3):595-605.
29. Moore GE, Mahaffey EA, Hoening M. Hematologic and serum biochemical effects of long-term administration of anti-inflammatory doses of prednisone in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53(6):1033-1037.
30. Doweiko JP, Nompoggi DJ. The role of albumin in human physiology and pathophysiology (part three): Albumin and disease states. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15(4):476-483.
31. Kung S, tang G, Wu C et al. Serum albumin concentration as a prognostic indicator for acute surgical patients. *Chin Med J* 1999; 62(2):61-67.

32. Reinhardt GF, Myscofski JW, Wilkens DB et al. Incidence and mortality of hypoalbuminemic patients in hospitalized veterans. *J Parenter Enteral Nutr* 1980; 4(4):357-359.
33. Michel KE. Prognostic value of clinical nutritional assessment in canine patients. *J Vet Emerg Crit Care* 1993; 3(2):96-104.
34. Hardie EM, Jayawickrama J, Durff LC et al. Prognostic indicators of survival in high risk canine surgery patients. *J Vet Emerg Crit Care* 1995; 5(1):42-49.
35. Grant DC, Forrester SD. Glomerulonephritis in dogs and cats. Glomerular function, pathophysiology, and clinical signs. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2001; 23(8):739-743.
36. Fleck A, Hawker F, Wallace PI et al. Increased vascular permeability: A major cause of hypoalbuminemia in disease and injury. *Lancet* 1985; 1(8432):781-784.
37. Weil MH, Henning RJ, Puri VK. Colloid oncotic pressure. Clinical significance. *Crit Care Med* 1979; 7(3):113-116.
38. Martin GS, Bernard GR. Airway and lung in sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27(1):63-79.
39. Ferguson ND, Meade MO, Hallett DC et al. High values of the pulmonary artery wedge pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2002; 28(8):1073-1077.
40. MecRay PM, Barden RP, Ravdin IS. Nutritional edema: its effects on the gastric emptying time before and after gastric operations. *Nutrition* 1990; 6(4):278-289.
41. Barden RP, Thompson WD, Ravdin IS. The influence of serum protein on the motility of the small intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 66:819-821.
42. Ford EG, Jennings LM, Andrassy RJ. Serum albumin (oncotic pressure) correlates with enteral feeding intolerance in the pediatric surgical patient. *J Pediatr Surg* 1987; 22(7):597-599.

43. Powanda MC, Moyer ED. Plasma proteins and wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1981; 153(3):749-753.
44. Harvey HJ. Complications of small intestinal biopsy in hypoalbuminemic dogs. *Vet Surg* 1990; 19(4):289-292.
45. Jorgensen KA, Stoffersen E. Heparin like activity of albumin. *Thromb Res* 1979; 16(3-4):569-574.
46. Jorgensen KA, Stoffersen E. On the inhibitory effects of albumin on platelet aggregation. *Thromb Res* 1980; 17(1-2):13-18.
47. Rao AK, Koike K, Day DJ et al. Bleeding disorder associated with albumin-dependent partial deficiency in platelet thromboxane production. *Am J Clin Path* 1985; 83(6):687-696.
48. Moore LE, Garvey MS. The effects of hetastarch on serum colloid oncotic pressure in hypoalbuminemic dogs. *J Vet Int Med* 1996; 10(5):300-303.
49. Drobatz KJ, Macintire DK. Heat-induced illness in dogs: 53 cases (1976-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209(11):1894-1899.
50. Reinhardt GF, Wilkins DB, Mysocofski JE et al. Incidence and mortality of hypoalbuminemic patients in hospitalized veterans. *J Parenter Enteral Nutr* 1980; 4(4):357-359.
51. Iseki K, Kawazoe N, Fukiyama K. Serum albumin is a strong predictor of death in chronic dialysis patients. *Kidney Int* 1993; 44(1):115-119.
52. McEllistrum MC, Collins JC, Powers JS. Admission serum albumin level as a predictor of outcome among geriatric patients. *South Med J* 1993; 86(12):1360-1361.
53. Law MR, Morris JK, Wald NJ et al. Serum albumin and mortality in the BUPA study. *Int J Epidemiol* 1994; 23(1):358-41.

54. Aguilera-Tejero E, Fernández H, Estepa JC et al. Arterial blood gases and acid-base balance in geriatric dogs. *Res Vet Sci* 1997; 63(3):253-256.
55. Figge J, Rossing TH, Fencel V. The role of serum protein in acid-base equilibrium. *J Lab Clin Med* 1991; 117(6):453-467.
56. Figge J, Myrdosh T, Fencel V. Serum proteins and acid-base equilibria: a follow-up. *J Lab Clin Med* 1992; 120(5):713-719.
57. Hopper K, Rezende ML, Haskins SC. Assessment of the effect of dilution of blood samples with sodium heparin on blood gas, electrolyte, and lactate measurements in dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66(4):656-660.
58. Fencel V, Jabor A, Kazda A et al. Diagnosis of metabolic acid-base disturbances in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(6):2246-2251.
59. Carvounis CP, Feinfeld DA. A simple estimate of the effect of the serum albumin level on the anion gap. *Am J Nephrol* 2000; 20(5):369-372.
60. Mc Auliffe JJ, Lind LJ, Leith DE et al. Hypoproteinemic alkalosis. *Am J Med* 1986; 81(1):86-90.
61. Hatherill M, Waggle Z, Purves L et al. Correction of anion gap for albumin in order to detect occult tissue anions in shock. *Arch Dis Child* 2002; 87(6):526-529.
62. Davis JW, Capuz KL, Parks SN. Base deficit is superior to pH in evaluating clearance of acidosis after traumatic shock. *J Trauma* 1998; 44(1):114-118.
63. Balasubramanian N, Havens PL, Hoffmann GM. Unmeasured anions identified by the Fencel-Stewart method predict mortality better than base excess, anion gap, and lactate in patients in the pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 1999; 27(8):1577-1581.

64. Kaplan LJ , Bailey H, Klein D et al . Strong ion gap: a predictor of early mortality following blunt or penetrating trauma. *Crit Care Med* 1999; 27(12):A42.
65. Cusak RJ, Rhodes A, Lochead P et al. The strong ion gap does not have prognostic value in critically ill patients in a mixed medical /surgical adult ICU. *Intensive Care Med* 2002; 28(7):864-869.
66. Smith I, Kumar P, Mohillo S et al. Base excess and lactate as prognostic indicators for patients admitted to intensive. *Intensive Care Med* 2001; 27(1):74-83.
67. Bakker J, Coffernils M, Leon M et al. Blood lactate levels are superior to oxygen-derived variables in predicting outcome in human septic shock. *Chest* 1991; 99(4):956-962.
68. Foley EF, Borlase BC, Dzik WH et al. Albumin supplementation in the critically ill. *Arch Surg* 1990; 125(6):739-742.
69. Ball JA, Rhodes A, Bennett ED. Prognostic factors in intensive care. *Eur J Intern Med* 2001; 12(4):334-343.
70. Kushner I, Gewurz H, Benson MD. C-reactive protein and the acute phase response. *J Lab Clin Med* 1981; 97(6):739-749.
71. Ebersole J, Cappelli D. Acute phase reactants in infectious and inflammatory diseases. *Periodontol* 2000; 23(1):19-49.
72. Whicher JT, Westacott CI. The acute phase response. In: Whicher JT, Evans SW, eds. *Biochemistry of Inflammation*. London: Kluwer Academic; 1992, pp. 243-272.
73. Kushner I, Mackiewicz A. The acute phase response: an overview. In: Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H, eds. *Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*. London; 1993, pp.3-19.

74. Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005; 34(2):85-99.
75. Yamamoto S, Shida T, Miyaji S et al. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Vet Res Com* 1993; 17(2):85-93.
76. Yamamoto S, Shida T, Okimura T et al. Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test. *Vet Q* 1994; 16(2):74-77.
77. Eckersall PD. The time is right for acute phase protein assays. *Vet J* 2004; 168(1):3-5.
78. Murata H, Shimada N, Yosioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J* 2004; 168(1):28-40.
79. Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U et al. Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. *J Vet Intern Med* 2005; 19(6):865-870.
80. Fuhrman P, Charney P, Mueller CM. Hepatic proteins and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(8):1258-1264.
81. Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed. New York: Academic Press; 1997, pp. 117-138.
82. Shoemaker, Ayres, Grenvik & Holbrook. *Tratado de Medicina Critica y Terapia Intensiva*. 4^a Edición, Editorial Panamericana, 2002.
83. Frost P, Wise MP. Recognition and early management of the critically ill ward patient. *Br J Hosp Med* 2007; 68(10):M180-183.

84. Endacott R, Kidd T, Chaboyer W et al. Recognition and communication of patient deterioration in a regional hospital: a multi-methods study. *Aust Crit Care* 2007; 20(3):100-105.
85. Weiss CH, Moazed F, McEvoy C et al. Prompting physicians to address a daily checklist and process of care and clinical outcomes. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184(6):680-686.
86. Kirby R: Septic shock. In Bonagura JD, eds: *Current Veterinary Therapy XII*, Philadelphia, Saunders; 1995, pp.139-146.
87. Caraceni P, Domenicali M, Tovoli A et al. Clinical indications for the albumin use: still a controversial issue. *Eur J Intern Med* 2013; 24(8):721-728.
88. Gatta A, Verardo A, Bolognesi M. Hypoalbuminemia. *Intern Emerg Med* 2012; 7(3):193-199.
89. Weill MH, Henning RJ, Puri VK. Colloid oncotic pressure: clinical significance. *Crit Care Med* 1979; 7(3):113-116.
90. Döerfelt R, Tickert M, Auer U. Hypoalbuminemia in dogs: outcome and therapy, a retrospective analysis. EVECCS abstracts, 12th EVECCS Congress, May 31-June 2, 2013. Copenhagen, Denmark.
91. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P et al. Sepsis Study group: A reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30(4):580-588.
92. Alberti C, Brun-Buisson C, Buchardi H et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* 2002; 28(2):108-21.

93. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29(7): 1303-1310.
94. Salvo I, De Cian W, Mussico M et al. The Italian SEPSIS study: preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 1995; 21(2):S244-249.
95. Sands K, Bates D, Lanken P et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *J Am Med Assoc* 1997; 278(3):234-240.
96. Martin G, Mannino D, Eaton S et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348(16):1546-1554.
97. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J et al. Incidence, risk factors and outcome of severe sepsis and septic shock in adults: A multicenter prospective study in intensive care units. *J Am Med Assoc* 1995; 274(12):968-974.
98. De Laforcade AM, Freeman LM, Shaw SP et al. Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. *J Vet Intern Med* 2003; 17(5):674-679.
99. Greenfield CL, Walshaw R. Open peritoneal drainage in the treatment of contaminated peritoneal cavity and septic peritonitis in dogs and cats: 24 cases (1980–1986). *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191(1):100-105.
100. King LG. Postoperative complications and prognostic indicators in dogs and cats with septic peritonitis: 23 cases (1989–1992). *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204(3):407-414.
101. Otto CM. Sepsis. In: Wingfield WE, eds. *The Veterinary ICU Book*. Jackson Hole, WY: Teton New Media; 2002, pp. 695-709.

102. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39(2):165-228.
103. Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care* 2003; 31(4):1250-1256.
104. Kjelgaard-Hansen M, Jacobsen S. Assay validation and diagnostic applications of major acute phase protein testing in companion animals. *Clin Lab Med* 2011; 31(1):51-70.
105. Hayes G, Mathews K, Doig G et al. The Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation (APPLE) Score: A Severity of Illness Stratification System for Hospitalized dogs. *J Vet Intern Med* 2010; 24(5):1034-1047.
106. King LG, Wohl JS, Manning AM et al. Evaluation of the survival prediction index as a model of risk stratification for clinical research in dogs admitted to intensive care units at four locations. *Am J Vet Res* 2001; 62(6):948-954.
107. De Morais HA. A non traditional approach to acid-base disorders. In: DiBartola SP, eds. *Fluid therapy in small animal practice*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992, pp. 297-320.
108. Gauthier PM, Szerlip HM. Metabolic acidosis in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 2002; 18(2):289-308.
109. Noritomi DT, Soriano FG, Kellum JA et al. Metabolic acidosis in patients with severe sepsis and septic shock: A longitudinal quantitative study. *Crit Care Med* 2009; 37(10):2733-2739.
110. Hopper K, Epstein SE. Incidence, nature and etiology of metabolic acidosis in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2012; 26(5):1107-1114.
111. Park M, Taniguchi LU, Noritomi DT et al. Clinical utility of standard base excess in the diagnosis and interpretation of metabolic acidosis in critically ill patients. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41(3):241-249.

112. Corey HE. Stewart and beyond: New models of acid-base balance. *Kidney Int* 2003; 64(3):777-787.
113. Rocktaeschel J, Morimatsu H, Uchino S et al. Acid-base status of critically ill patient with acute renal failure: analysis based on Stewart-Figge methodology. *Crit Care* 2003; 7(4):R60.
114. Hodgkin JE, Soeprono FF, Chan DM. Incidence of metabolic alkalemia in hospitalized patients. *Crit Care Med* 1980; 8(12):725-728.
115. Okusawa S, Aikawa N, Abe O. Postoperative metabolic alkalosis following general surgery: Its incidence and possible etiology. *Jap J Surg* 1989; 19(3):312-318.
116. Boaz M, Iskhakov A, Tsivian A et al. Perioperative metabolic alkalemia is more frequent than metabolic acidemia in major elective abdominal surgery. *J Clin Monit Comput* 2011; 25(4):223-230.
117. Figge J, Jabor A, Kazda A et al. Anion gap and hypoalbuminemia. *Crit Care Med* 1998; 26(11):1807-1810.
118. Constable PD, Stämpfli HR. Experimental Determination of Net Protein Charge and A_{tot} and K_a of Non-volatile Buffers in Canine Plasma. *J Vet Int Med* 2005; 19(4):507-514.
119. Wilkes P. Hypoproteinemia, strong-ion difference, and acid base status in critically ill patients. *J Appl Physiol* 1998; 84(5):1740-1748.
120. Dubin, A, Menises MM, Masevicius FD et al. Comparison of three different methods of evaluation of metabolic acid-base disorders. *Crit Care Med* 2007; 35(5):1264-1270.
121. Martin M, Murray J, Berne T et al. Diagnosis of acid-base derangements and mortality prediction in the trauma intensive care unit: the physiochemical approach. *J Trauma* 2005; 58(2):238-243.

122. Wilkes P. Normal SID. In: Kellum J, Elbers P, eds. *Stewart's Textbook of Acid-Base*, 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Lulu Enterprises, UK Ltd; 2009, pp. 201-215.
123. Venkatesh B, Morgan T. Unmeasured anions: the unknown unknowns. *Crit Care* 2008; 12(1):1-2.
124. Durward A, Tibby SM, Skellett S et al. The strong ion gap predicts mortality in children following cardiopulmonary bypass surgery. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6(3):281-285.
125. Kaplan LJ, Kellum JA. Initial pH, base deficit, lactate, anion gap, strong ion difference, and strong ion gap predict outcome from major vascular trauma. *Crit Care Med* 2004; 32(5):1120-1124.
126. Pittet D, Rangel-Frausto S, Li N, et al. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. *Intensive Care Med* 1995; 21(4):302-309.
127. Coursin DB, Unger B. Endocrine complications in intensive care unit patients. *J Crit Care* 2002; 21(1):59-74.
128. Eckersall PD. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comp Haematol Int* 1995; 5(2):93-97.
129. Krause A, Neitz S, Magert HJ et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480(2-3):147-150.
130. Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3):783-788.
131. Lee P, Peng H, Gelbart T et al. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(6):1906-1910.

132. Nemeth E, Tuttle M, Powelson J, Vaughn MB et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306(5704):2090-2093.
133. Verga Falzacappa MV, Muckenthaler MU. Heparin: iron-hormone and anti-microbial peptide. *Gene* 2005; 364:37-44.
134. Steele TM, Frazer DM, Anderson GJ. Systemic regulation of intestinal iron absorption. *IUBMB Life* 2005; 57(7):499-503.
135. Gibbs J, Cull W, Henderson W et al. Preoperative Serum Albumin Level as a Predictor of operative mortality and morbidity. *Arch Surg* 1999; 134(1): 36-42.
136. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15(5):458-482.
137. Fuhrman P, Charney P, Mueller CM. Hepatic proteins and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(8):1258-1264.
138. Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG et al. HEMO Study Group NIDDK: Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 65(4):1408-1415.
139. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V et al. C-reactive protein predicts all cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35(3): 469-476.
140. Castelli GP, Pognani C, Meisner M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 2004; 8(4):234-242.

141. Gebhardt C, Irschbereger J, Rau S et al. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *J Vet Emerg Crit Care* 2009; 19(5):450-458.
142. Langhorn R, Oyama M, King L et al. Prognostic importance of myocardial injury in critically ill dogs with systemic inflammation. *J Vet Inter Med* 2013; 27(4):895-903.
143. Feldman BF: Nonregenerative anemia. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine*, 6th ed. St. Louis: Elsevier; 2005, pp. 1908-1917.

