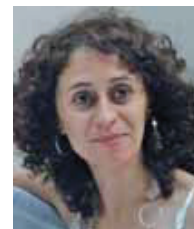


# Greyhound e oltre: come la razza può influenzare l'interpretazione dei dati clinico-patologici



Il cane moderno comprende quasi 400 razze diverse, selezionate nei secoli per esaltare le loro attitudini e le caratteristiche fisiche. Questo intervento dell'uomo ha plasmato l'anatomia e la fisiologia dei cani, portando anche ad avere, in alcuni casi, delle sostanziali differenze in vari parametri clinico-patologici. Il gruppo di cani più studiati da questo punto di vista è senza dubbio quello dei "sighthounds" o levrieri, animali selezionati per la caccia a vista e la corsa su lunghe distanze. Tra le caratteristiche clinico-patologiche comuni a diverse razze appartenenti a questo gruppo, vi sono i parametri eritrocitari più alti, come ematocrito (HCT), emoglobina (HGB), volume corpuscolare medio (MCV) e concentrazione emoglobinica corpuscolare media (MCHC), per permettere una migliore performance atletica, oltre a livelli maggiori di creatinina, dati dalle notevoli masse muscolari. Allo stesso modo, la tendenza ad avere livelli di proteine totali e globuline minori rispetto a quelli di altre razze aiuterebbe a bilanciare l'ematocrito elevato ed eviterebbe un'eccessiva viscosità del sangue. Peculiarità clinico-patologiche sono state riscontrate anche in altre razze, come la macrotrombocitopenia asintomatica nei Cavalier King Charles Spaniel, Norfolk e Cairn Terrier. Appropriati intervalli di riferimento specifici per razze, o gruppi di razze, sono perciò uno strumento essenziale per una corretta diagnosi e gestione di molteplici situazioni patologiche.



Maria Elena Gelain\*,  
Med Vet, PhD,  
Dipl ECVCP



Federico Bonsembiante\*,  
Med Vet

## INTRODUZIONE

Il *Canis lupus Familiaris* è considerato il primo animale addomesticato, evoluto dal lupo probabilmente nel tardo pleistocene alla fine dell'ultima glaciazione<sup>1</sup> e, come tale, condivide e aiuta l'uomo nella vita domestica e lavorativa da migliaia di anni. Recenti studi archeologici e genetici<sup>1</sup> hanno identificato, in medio-oriente e in est Europa, i resti di quelli che sono considerati i primi cani ad-

domesticati, risalenti a circa 30.000 anni fa, nel momento in cui le comunità di cacciatori-raccoglitori cacciavano i grandi mammiferi. Da quel momento in poi, il cane ha accompagnato l'uomo in tutte le sue attività, dalla caccia all'allevamento, come aiuto nella difesa o come animale da compagnia, sviluppando un'ineguagliabile connessione emotiva. La necessità di avere cani con abilità diverse ha portato l'uomo a selezionare, nei secoli, cani con tratti fenotipici diversi, dando inizio alla formazione dei "prototipi" delle varie razze del cane moderno<sup>2</sup>.

\*Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova. AGRIPOLIS, Viale dell'Università, 16 35020 Legnaro (PD)

Corresponding author:  
Maria Elena Gelain, DVM, PhD, Dipl ECVCP  
Dept. of Comparative Biomedicine and Food Science.  
University of Padua.  
AGRIPOLIS - Viale dell'Università 16.  
35020 Legnaro (PD) - Italy.  
e-mail: mariaelena.gelain@unipd.it  
tel: +390498272518.

**Lo specifico background genetico, modellato dalla selezione per esaltare specifiche attività lavorative o aspetti morfologici, ha influenzato anche numerosi parametri ematologici e biochimici.**

Ricevuto: 01/06/2017 - Accettato: 23/08/2017

Ma sarà solo in epoca Vittoriana che verranno stabiliti i criteri per la formazione e il riconoscimento delle razze come oggi noi le conosciamo<sup>3</sup>. Da quel momento, in poco meno di 200 anni, si è arrivati alla definizione di più di 350 razze di cane moderno, ognuna con la propria storia “evolutiva” e il proprio profilo genetico<sup>2</sup>. E così, se “*Ciò che noi chiamiamo con il nome di rosa, anche se lo chiamassimo con un altro nome, servirebbe pur sempre lo stesso dolce profumo.*” (W. Shakespeare, Romeo e Giulietta, atto II, scena II), il cane che chiamiamo “barboncino” è invece ben diverso da quello che chiamiamo “bulldog”<sup>3</sup>. Lo specifico background genetico, modellato dalla selezione per esaltare specifiche attività lavorative o aspetti morfologici, ha influenzato anche numerosi parametri ematologici e biochimici<sup>4</sup>.

## GREYHOUND E ALTRI LEVRIERI

I cani appartenenti al gruppo dei levrieri o *sighthound* (cani da caccia a vista), sono animali adatti alla corsa e, se adesso sono usati per lo più come animali da compagnia o da gara per corse su corte distanze (<500 metri), originariamente erano stati selezionati per cacciare e correre su lunghe distanze. A questo gruppo appartengono 12 razze, tra le quali i levrieri a pelo lungo (il Borzoi, il Levriero Afgano e il Saluki), i levrieri a pelo duro (il Deerhound e l'Irsh Wolfhound) e i levrieri a pelo corto (Greyhound, Whippet, Piccolo Levriero Italiano, Galgo Spagnolo, l'Azawakh, il Levriero Polacco, lo Sloughi e il Magyar Agar). L'adattamento alla caccia su lunghe distanze ne ha plasmato l'anatomia e la fisiologia, facendone così degli animali caratterizzati da masse muscolari ampie, ossa degli arti allungate e vista acuta<sup>5</sup>. Anche dal punto di vista clinico-patologico questi animali presentano peculiarità in diversi parametri clinico-patologici.

### Ematologia

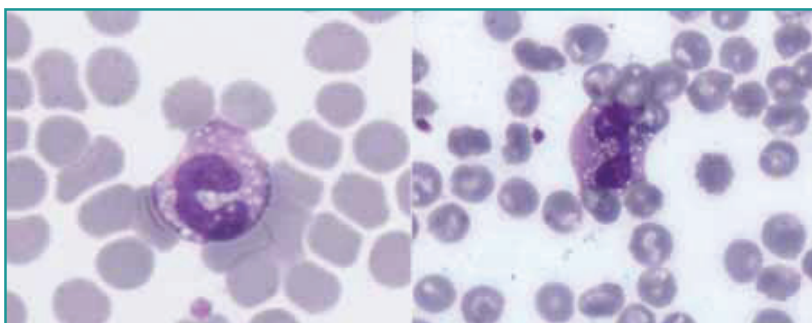
Diversi studi hanno dimostrato come numerose razze di levrieri, come Greyhound, Whippet, Galgo Spagnolo, Piccoli Levrieri Italiani, Borzoi e Saluki, abbiano valori più alti rispetto ai cani “non-levrieri” di concentrazione di eritrociti (RBC), ematocrito (HCT), emoglobina (HGB), volume corpuscolare medio (MCV) e concentrazione emoglobinica corpuscolare media (MCHC)<sup>6-9</sup>. Questi parametri permetterebbero una migliore performance atletica, ma non sarebbero indotti dall'allenamento bensì sarebbero delle caratteristiche proprie dei levrieri adulti. Questi valori, infatti, sono correlati con l'età: le differenze

con le altre razze sono meno marcate in animali molto giovani (5-6 mesi), per poi aumentare in cani di 9-10 mesi e negli adulti<sup>10</sup>. Inoltre, l'HGB nei Greyhound sembra avere un'elevata affinità per l'ossigeno data da una minor  $P_{50}$  (pressione parziale dell'ossigeno alla quale il 50% dell'HGB è saturata): valori più elevati di HGB e HCT sarebbero quindi un adattamento dell'organismo al minor rilascio di ossigeno ai tessuti. Anche la macrocitosi è probabilmente una caratteristica fisiologica propria di questa razza, anche se in alcune pubblicazioni scien-

**Questi parametri permetterebbero una migliore performance atletica, ma non sarebbero indotti dall'allenamento bensì sarebbero delle caratteristiche proprie dei levrieri adulti.**

tifiche questa veniva attribuita ad un aumento di reticolociti circolanti, dal momento che l'emivita dei RBC in questi animali è minore<sup>10,11</sup>. Tuttavia, non è stato rilevato aumento del numero dei reticolociti rispetto alle altre razze in animali a riposo<sup>6</sup>, ma solo un aumento dopo un'intensa attività fisica, forse a causa di un rilascio da parte della milza<sup>12</sup>. Altra peculiarità ematologica dei Greyhound è la distribuzione dei gruppi sanguigni, con una minor presenza di animali DEA 1.1 rispetto agli altri cani<sup>13</sup>.

Greyhound e Whippet sono caratterizzati anche da una concentrazione di leucociti totali e di granulociti neutrofili minore rispetto alle altre razze, oltre che dalla presenza in circolo di granulociti eosinofili nei quali, usando le tradizionali colorazioni Romanowsky, non sono visibili i granuli con la normale colorazione eosinofila, ma si presentano vacuolizzati o, come più comunemente vengono definiti, appaiono come eosinofili “grigi” (Fig. 1.) Queste cellule sono funzionalmente normali, senza alterazioni ultrastrutturali o citochimiche e tale aspetto è probabilmente da ricondursi ad una alterata affinità tintoriale dei granuli<sup>6,9,14</sup>. Tuttavia, il loro aspetto che può ricordare quello dei neutrofili tossici, in cani che si presentano con una conta leucocitaria più bassa, può far so-



**Figura 1** - Eosinofili grigi in sangue periferico di Whippet: sono evidenti, nel citoplasma, delle vacuolizzazioni che rappresentano i granuli non colorati.

spettare un grave processo flogistico. Una sottostima dei granulociti eosinofili è stata dimostrata anche nella conta differenziale prodotta da contaglobuli automatiche: sia il sistema ADVIA 120 sia il Sysmex XT-2000iV, nonostante usino due tecnologie diverse, possono sotto-

razze di levrieri, come gli Azawakh o il Cane dei Faraoni, sembrano avere conte piastriniche sovrapponibili a quelle dei cani non levrieri<sup>11</sup>. Tuttavia, questi ultimi dati sono stati raccolti su un campione limitato di animali e lavori più estesi sono necessari per confermare questa differenza.

**In questi animali anche il piastrinocrito (PCT) riflette il numero inferiore di piastrine con volume normale, a differenza di quanto accade in altre razze macrotrombocitopeniche, come il Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) nelle quali, la trombocitopenia è compensata dall'aumento del volume piastrinico medio (MPV), risultando quindi in un PCT nella norma.**

stimare o, occasionalmente, non contare gli eosinofili nei Greyhound. Per il primo sistema, l'errore potrebbe essere legato ad un minor contenuto di mieloperossidasi in queste cellule che porterebbe lo strumento ad identificarli come monociti (cellule con un minor contenuto di mieloperossidasi) o nelle "Large Unstained Cell" (LUC) (cellule negative alla mieloperossidasi). Nel sistema Sysmex invece i granulociti eosinofili appaiono con una minor complessità citoplasmatica che li porta a sovrapporsi in parte ai granulociti neutrofili<sup>15</sup>. Bisogna inoltre ricordare che la presenza di granulociti eosinofili "grigi" è caratteristica comune anche ad altri levrieri come i Piccoli Levrieri Italiani, gli Scottish Deerhound e i Borzoi<sup>11,15,16</sup>. Altra peculiarità ematologica dei levrieri è la conta piastrinica più bassa rispetto alle altre razze. Una concentrazione di piastrine inferiore a 100.000/ $\mu$ L in Greyhound sani dovrebbe essere considerata nella norma. In questi animali anche il piastrinocrito (PCT) riflette il numero inferiore di piastrine con volume normale, a differenza di quanto accade in altre razze macrotrombocitopeniche, come il Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) nelle quali, la trombocitopenia è compensata dall'aumento del volume piastrinico medio (MPV), risultando quindi in un PCT nella norma<sup>17</sup>. Varie ipotesi sono state proposte per spiegare questo dato: alcuni autori hanno suggerito la possibilità di una sorta di "competizione" nelle cellule staminali nella quale le cellule staminali bi-potenti sarebbero programmate per produrre sia precursori eritroidi sia precursori megacariocitari, ma lo stimolo in favore di una delle due linee, nella fattispecie quella eritroide, inibirebbe la seconda<sup>18</sup>. Altre ipotesi invece si basano su un'inibizione della megacariopoiesi per aumento delle riserve di ferro o un aumentato sequestro da parte della milza e/o dei polmoni<sup>6</sup>. Conte piastriniche simili a quelle dei Greyhound sono state segnalate anche negli Scottish Deerhound, nei Galgo Spagnoli<sup>19</sup>, nei Whippet, e nei Piccoli Levrieri Italiani, mentre altre

### Biochimica clinica

Data la loro spiccata attitudine all'attività atletica, i Greyhound possiedono una massa muscolare maggiore rispetto a molte altre razze canine e quindi una maggior quantità di fosfocreatina. Questo si riflette in concentrazioni maggiori di creatinina, sia in animali in attività sia in animali a riposo, a suggerire ancora una volta che queste particolarità non sono legate a fattori esogeni. Numerosi stu-

di hanno evidenziato che gli intervalli di riferimento per questo analita debbano essere più ampi rispetto a quelli normalmente usati per gli altri cani<sup>20,21</sup>. Tale dato però non è del tutto confermato nelle diverse razze appartenenti al gruppo dei levrieri: solo gli intervalli di riferimento di Borzoi e Whippet in parte si sovrappongono a quelli definiti per i Greyhound, mentre razze come gli Scottish Deerhound, i Saluki e i Piccoli Levrieri Italiani sembrano avere livelli di creatinina simili a quelli degli altri cani<sup>11,16</sup>.

Altri parametri che possono essere influenzati dalle caratteristiche anatomiche e fisiologiche tipiche dei levrieri sono gli enzimi epatici. In particolare, l'attività dell'alanina aminotransferasi (ALT) è maggiore nei Greyhound<sup>20</sup>, probabilmente sempre per le ampie masse muscolari, dove sono maggiormente possibili lesioni distrofiche e necrosi<sup>6</sup>. Tuttavia, valori elevati di ALT sono stati riscontrati anche in altre razze di levrieri, come i Piccoli Levrieri Italiani, che presentano masse muscolari decisamente minori<sup>11</sup>. Vi sono enzimi, come l'aspartato aminotransferasi (AST) e la fosfatasi alcalina (ALP), che possono presentare valori più alti in Greyhound, Scottish Deerhound e Cani del Faraone, ma con incrementi decisamente meno significativi<sup>11,16</sup>.

Per quanto riguarda le proteine sieriche, i Greyhound hanno tendenzialmente livelli di proteine totali e globuline

**Alcuni autori suggeriscono che anche l'ipoproteïnemia e l'ipoglobulinemia siano un adattamento all'attività atletica: la diminuzione delle proteine sieriche infatti bilancerebbe l'HCT elevato ed eviterebbe un'eccessiva viscosità del sangue.**

minori rispetto a quelli di altre razze, mentre albumine e  $\gamma$ -globuline sono sovrapponibili<sup>20,22</sup> con un conseguente aumento del rapporto albumine:globuline. In particolare, la diminuzione delle globuline sarebbe da imputare ad una variazione nella concentrazione di  $\alpha$ - e  $\beta$ -globuli-

ne. La diminuzione di queste ultime potrebbe essere data da una minor concentrazione di IgA e IgM<sup>23</sup>, mentre una variazione nella concentrazione delle proteine di fase acuta potrebbe spiegare la differenza nei livelli di  $\alpha$ -globuline. Tuttavia, finora, sono stati rilevati solo livelli più bassi di Aptoglobina (Hp) e della glicoproteina acida solubile (ASG)<sup>24</sup>. Alcuni autori suggeriscono che anche l'ipoproteinemia e l'ipoglobulinemia siano un adattamento all'attività atletica: la diminuzione delle proteine sieriche infatti bilancerebbe l'HCT elevato ed eviterebbe una eccessiva viscosità del sangue<sup>6</sup>.

Altri parametri che richiedono intervalli di riferimento specifici per Greyhound e altri levrieri sono gli ormoni tiroidei. In particolare, i livelli di T4 totale sono minori rispetto ai normali intervalli di riferimento usati comunemente nel cane<sup>25</sup> in Greyhound, Whippet, Saluki e Scottish Deerhound<sup>26</sup>. I Greyhound, oltre ad avere livelli di T4 più bassi negli animali allenati e in attività, sono caratterizzati da livelli minori anche di T4 libero (free T4, fT4)<sup>27</sup>, dato invece non confermato nei Whippet nei quali l'attività atletica non pare influire sul quadro tiroideo<sup>28</sup>. Per altri parametri, come il T3 totale, sono invece presenti dati più variabili, con valori che nei Greyhound possono essere inferiori, superiori o comparabili con quelli delle altre razze<sup>25,27</sup> mentre nessuna differenza di rilievo è segnalata per il TSH<sup>26</sup>. Particolare attenzione va quindi posta nella valutazione del profilo tiroideo nei levrieri per evitare diagnosi errate di ipotiroidismo basate su pannelli limitati o con intervalli di riferimento (IR) non appropriati.

Di minor importanza clinica sono invece le differenze riguardanti gli elettroliti, dei quali solo il calcio totale appare decisamente inferiore in diverse razze di levrieri<sup>11,16,20</sup>. La spiegazione di tale particolarità è da attribuire a concomitanti alterazioni della concentrazione di fosforo<sup>11</sup>, ma in alcune razze, come gli Scottish Deerhound, tale correlazione non è stata evidenziata, così come poco probabile è il legame con l'ipoproteinemia<sup>16</sup>. Alcuni autori riferiscono inoltre livelli maggiori di sodio, ma solo dopo esercizio fisico<sup>29</sup>. In tabella 1 sono riassunte tutte le variazioni dei parametri ematologici e biochimici nei cani appartenenti al gruppo dei levrieri.

## ALTRE RAZZE

A partire dalle differenze riscontrate nei parametri ematologici e biochimici evidenziate nei levrieri, sono stati svolti studi per identificare la presenza di differenze razza-specifiche in animali che non appartenessero alle razze 'sighthounds'.

### Ematologia

Studi per determinare gli IR per i parametri ematologici razza-specifici in cani che non appartenessero al gruppo

dei levrieri sono stati svolti in due razze del gruppo dei Molossoidi-Bovari Svizzeri, il Dogue de Bordeaux<sup>30</sup> e il Bovaro del Bernese<sup>31</sup>, mentre negli Shiba-Inu<sup>32</sup> e nei Barboni nani e toy sono stati svolti studi per valutare la morfologia degli eritrociti<sup>33-35</sup>.

**Tuttavia, anche se la valutazione dei parametri ematologici viene eseguita utilizzando gli IR non razza-specifici, ma ottenuti con lo stesso strumento e le stesse condizioni pre-analitiche, la differenza negli IR non dovrebbe essere così marcata da modificare le decisioni cliniche.**

Gli IR nel Dogue de Bordeaux, determinati utilizzando il sistema Sysmex XT-2000iV, sono risultati essere sovrapponibili, ma con minor ampiezza di variazione, a quelli calcolati utilizzando tutte le razze canine ad eccezione dei valori di HGB, HCT, MCV, MCHC e MPV, che sono risultati essere più elevati nel Dogue de Bordeaux<sup>30</sup>. Questi dati ematologici possono essere spiegati dalla maggior produzione di globuli rossi indotta dallo stato di leggera ipossia, tipica delle razze brachicefaliche<sup>36</sup>. L'utilizzo in questa specie degli IR riportati in letteratura potrebbe erroneamente indurre a classificare animali sani come policitemici, a causa dei valori di ematocrito medio più elevati. Tuttavia, anche se la valutazione dei parametri ematologici viene eseguita utilizzando gli IR non razza-specifici, ma ottenuti con lo stesso strumento e le stesse condizioni pre-analitiche, la differenza negli IR non dovrebbe essere così marcata da modificare le decisioni cliniche<sup>30</sup>. Gli IR dei leucociti totali, degli eosinofili, e dei parametri reticolocitari (reticolociti a bassa, media fluorescenza e la frazione di reticolociti immaturi) sono risultati essere diversi tra Dogue de Bordeaux con maschera marrone e maschera nera, ma in base al basso numero di cani con la maschera nera, non è stato possibile partizionare i risultati in base al diverso colore delle maschere<sup>30</sup>. In questo lavoro gli autori non hanno evidenziato un marcato impatto sulle decisioni cliniche analizzando i dati ematologici nei Dogue de Bordeaux utilizzando gli IR non razza-specifici. Tuttavia, dato che gli IR del Dogue de Bordeaux hanno dimostrato una minor variabilità, l'utilizzo di IR razza-specifici permette di identificare alterazioni nei parametri ematologici che non verrebbero apprezzate utilizzando IR non razza-specifici<sup>30</sup>.

Nel Bovaro del Bernese, gli IR di 9 parametri ematologici (concentrazione di leucociti, neutrofili, linfociti, monociti, basofili, MCV, RBC, HCT ed HGB) sono risultati sovrapponibili agli IR non razza-specifici, mentre la concentrazione di eosinofili e MCHC sono risultati diversi rispetto agli IR non razza-specifici. Per la loro valutazione quindi è opportuno utilizzare valori razza-spe-

cifici<sup>31</sup>. Per la concentrazione degli eosinofili, le differenze sono risultate essere minime tra gli IR non razza-specifici e razza-specifici, anche se statisticamente significative. Allo stesso modo, i valori di MCHC sono risultati maggiori in questa razza: questo parametro potrebbe risultare falsamente aumentato in caso di emolisi, sia intravascolare che *in vitro*. Tuttavia, gli autori non hanno riscontrato campioni emolitici, per cui potrebbe essere caratteristica specifica del Bovaro del Bernese anche se i parametri che vengono utilizzati per calcolare l'MCHC (HGB/HCT)<sup>37</sup> nei cani in esame non risultavano essere alterati<sup>31</sup>. Altre peculiarità di razza riguardanti gli eritrociti sono state identificate negli Shiba-Inu, dove è segnalata una microcitosi, probabilmente su base ereditaria, e nei barboni dove, al contrario, è presente una macrocitosi. Negli Shiba-Inu, gli IR per l'MCV sono risultati

inferiori rispetto agli IR non razza specifici e nello studio di Gookin e colleghi (1998) in 12 cani su 18 è stata diagnosticata la microcitosi<sup>32</sup>. Al contrario, i barboni sembrano predisposti alla macrocitosi<sup>33-35</sup>. Il quadro citologico midollare evidenziato in questi animali è simile a quello presente nei bambini affetti da anemia congenita diseritropoietica<sup>38</sup>, ma alcuni autori preferiscono classificarlo come un disordine megaloblastico<sup>35</sup>. In ogni caso, indipendentemente dalla sua classificazione, si presume che questa condizione sia ereditaria<sup>35</sup>.

Nel Dogue de Bordeaux il numero di piastrine determinato sia con il metodo ad impedenza (PLT-I) e sia tramite laser (PLT-O) e il PCT sono risultati minori rispetto agli IR non razza-specifici, mentre l'MPV è risultato maggiore<sup>30</sup>. Questa alterazione, non accompagnata da sintomatologia clinica, potrebbe in alcuni casi essere dovuta

**Tabella 1 - Variazioni dei principali dati clinico-patologici nei cani levrieri**

Parametri clinico-patologici	Greyhound	Whippet	Saluki	Borzoi	Galgo spagnolo	Piccoli levrieri italiani	Scottish deerhound
HCT	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
RBC	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
HGB	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
MCV	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
MCHC	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
WBC	↓	↓	↔	↔	↔	↔	↔
PLT	↓	↓	↔	↔	↓	↔	↓
PCT	↓	↓	↔	↔	↓	↔	↓
UREA							
CREATININA	↑	↑	↔	↑	nd	↔	↔
AST	↑	↑	↑	↔	nd	↑	↑
ALT	↑	↑	↑	↑	nd	↑	
ALP	↑						↑
COLESTEROLO							↑
PROTEINE TOTALI	↓						
ALBUMINA	↔						
GLOBULINE TOT	↓						
ALFA-GLOBULINE	↓						
BETA-GLOBULINE	↓						
GAMMA-GLOBULINE	↔						
APP	↓ (HP)						
Ca++	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
T4	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
ft4	↓						
T3	↔						
DEA 1.1	++						
MACROPIASTRINE	NO	NO			NO		NO
GRANULOCITI EOSINOFILI «GRIGI»	Sì	Sì		Sì		Sì	Sì



semplicemente al tempo di stoccaggio del campione, dato che con il passare del tempo è stata dimostrata una diminuzione delle PLT ed un aumento dell'MPV<sup>39</sup>, oppure potrebbe essere legata ad un'alterazione genetica, come riportato in altri cani. Tuttavia, in queste razze, come il CKCS, i Norfolk Terrier (NT) e i Cairn Terrier (CT), il PCT risultava negli IR, e ne è stata successivamente identificata la base genetica<sup>40,41</sup>, mentre nel Dogue de Bordeaux anche il PCT risulta diminuito<sup>30</sup>. Sono necessari ulteriori studi per accertare le cause di questa trombocitopenia associata ad un aumentato MPV.

Nei CKCS è stata riportata un'alta incidenza di macrotrombocitopenia<sup>38,41</sup>. Questa alterazione è caratterizzata da un aumento dell'MPV associata ad una diminuzione del numero di piastrine circolanti, associata però ad una massa piastrinica totale nella norma, quindi ad un PCT normale<sup>40</sup>, in animali che non presentano nessun segno clinico riferibile ad un'alterata coagulazione<sup>45</sup>. In questa razza è stato quindi proposto il PCT invece che il numero di piastrine totali come parametro per valutare la reale presenza di piastrinopenia<sup>44</sup>. Questo disordine è stato inoltre caratterizzato geneticamente ed è stata individuata una mutazione in posizione 745 nel gene che codifica per la  $\beta$ -1 tubulina, proteina presente sia all'interno dei megacariociti<sup>40</sup> sia all'interno delle piastrine come componente dei microtubuli<sup>46</sup>, con conseguente sostituzione di un acido aspartico al posto dell'asparagina in posizione 249 della proteina<sup>40</sup>. Nei CKCS affetti da ma-

**In questa razza è stato quindi proposto il PCT invece che il numero di piastrine totali come parametro per valutare la reale presenza di piastrinopenia.**

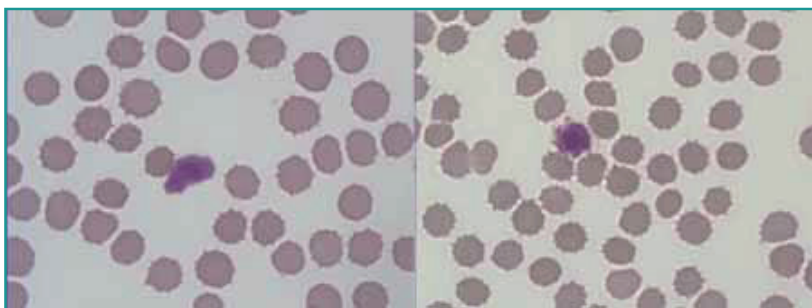
crothrombocitopenia l'assemblaggio dei microtubuli risulta alterato, con conseguente alterata frammentazione e rilascio di pro-piastrine e piastrine<sup>40</sup>, di dimensioni maggiori e, di conseguenza, minori in numero. Questo disordine viene ereditato in maniera autosomica recessiva<sup>42</sup> e i cani eterozigoti possiedono un numero di piastrine intermedio rispetto a quello dei cani omozigoti senza mutazione e dei cani omozigoti con mutazione<sup>40</sup>.

La macrotrombocitopenia su base genetica è stata riportata in altre due razze: il NT e il CT<sup>41</sup> (Fig. 2). In queste due razze non è stata riscontrata la mutazione presente nei CKCS, ma un nuovo polimorfismo localizzato nell'esone 1 in posizione 5 del gene che codifica per  $\beta$ -1 tubulina, con

conseguente cambiamento amminoacidico di un'istidina al posto di un'arginina in posizione 2 nella proteina. La modalità di trasmissione è autosomica recessiva, come nella mutazione riscontrata nei CKCS<sup>40</sup>, ma a differenza di questa, nei NT e nei CT gli individui eterozigoti presentano piastrine normali per numero e morfologia<sup>41</sup>. La macrotrombocitopenia è stata riscontrata anche in 3 Akita-Inu non imparentati tra loro. In questi tre animali la presentazione clinica era la medesima dei CKCS, NT e CT, ma non è stata evidenziata nessuna mutazione a carico del gene della  $\beta$ -1 tubulina<sup>47</sup>. Dato che questa alterazione è stata riscontrata in soli 3 animali non è stato possibile risalire alla modalità di trasmissione, e sono necessari ulteriori accertamenti per identificare la mutazione responsabile<sup>47</sup>.

### Biochimica clinica

Nel corso degli anni è stato anche valutato se la dimensione degli animali potesse influire sui parametri biochimici. Sono stati valutati i parametri biochimici in 6 diverse razze di taglia grande, come Bovaro del Bernese<sup>31</sup>, Dogue de Bordeaux<sup>48</sup>, Siberian Husky, Alaskan Malamutes, Golden Retriever e Setter Inglese<sup>49</sup> e in 7 diverse razze di taglia piccola: Bichon Frisé, CKCS, King Charles Spaniel, Barbone Nano, Shi-Tzu, Yorkshire Terrier e Bassotto<sup>50</sup>. Nel Bovaro del Bernese l'attività o la concentrazione di analiti che sono risultati essere diversi rispetto agli IR non razza-specifici sono ALP,  $\gamma$ -glutamyl transferasi (GGT), amilasi, colesterolo e bilirubina totale<sup>31</sup>. Tuttavia, mentre per la bilirubina totale, l'amilasi e il colesterolo sembra che questa razza abbia effettivamente delle concentrazioni diverse rispetto agli altri cani, per ALP e GGT la diversità rispetto agli IR non razza-specifici sono da attribuirsi ad una maggior variabilità della distribuzione di questi analiti nei Bovari del Bernese. In questa razza, il limite superiore degli IR per ALP, GGT e amilasi sono risultati essere superiori agli IR non razza-specifici. Dato che nessuno dei cani in esame aveva alterazioni epatiche, può essere utile utilizzare IR specifici per questa razza nella valutazione di ALP e GGT, per evitare di classificare come epatopatici animali che in realtà sono sani,



**Figura 2** - Macropiastrine in sangue periferico di Norfolk terrier con macrotrombocitopenia: le dimensioni delle piastrine sono simili o maggiori a quelle di un globulo rosso.

mentre per la valutazione dell'amilasi, l'utilizzo di IR razza-specifici sembra meno importante, dato che l'amilasi è un parametro biochimico con scarsa specificità per l'identificazione di disordini pancreatici<sup>51</sup>. Gli IR del Bovaro del Bernese per il colesterolo sono risultati maggiori rispetto agli IR non razza-specifici, anche se nessuno dei campioni era lipemico e nessun animale aveva segni clinici di iperlipidemia. Anche per questo analita è importante quindi utilizzare IR specifici, per non diagnosticare disordini colestatici, endocrini, sindrome nefrosica o un'iperlipidemia primaria in animali sani, dato che in queste patologie è possibile riscontrare un'aumentata concentrazione di colesterolo<sup>52</sup>.

Nel Dogue de Bordeaux, invece, alcuni parametri biochimici sono stati confrontati con gli IR forniti dal produttore dello strumento di biochimica utilizzato e non con IR calcolati nel laboratorio dove è stato effettuato lo studio. La maggior parte degli animali aveva valori di lipasi maggiori rispetto agli IR, anche se nessuno dei cani aveva segni clinici suggestivi di pancreatite. Tuttavia, dato che in questo lavoro non è stata valutata la lipasi pancreatica specifica, un marker più specifico per diagnosticare la pancreatite<sup>48</sup>, non si può escludere la presenza di pancreatite subclinica in questi cani. Una piccola percentuale di animali aveva valori elevati di colesterolo, non associati a ipertrigliceridemia. Un aumento del colesterolo è stato osservato frequentemente in corso di ipotiroidismo, e in questi cani non è stato possibile escludere questa patologia, anche se non è stata notata nessuna correlazione tra ipercolesterolemia e diminuzione degli ormoni tiroidei. Valori aumentati di colesterolo sono stati trovati anche nel Bovaro del Bernese<sup>31</sup>, che, anche se non brachicefalo, appartiene comunque al gruppo Molossoidi-Bovari Svizzeri. Potrebbe quindi essere una caratteristica di questa tipologia di razze avere livelli di colesterolo maggiori rispetto alle altre. È quindi opportuno definire appropriati IR, soprattutto nelle razze predisposte alla glomerulonefropatia giovanile<sup>53</sup>, per evitare di sovradiagnosticare una sindrome nefrosica, condizione associata ad ipercolesterolemia. In questi cani anche la concentrazione delle proteine totali è risultata essere maggiore rispetto agli IR utilizzati. Dato però che gli IR utilizzati erano molto simili agli IR dei Greyhounds, gli autori hanno ipotizzato che l'iperproteinemia identificata sia dovuta all'utilizzo di IR non adeguati. Anche AST e ALT sono risultati maggiori, e questa maggior attività potrebbe essere conseguenza delle imponenti masse muscolari presenti in questa razza, anche se la creatin chinasi (CK), l'analita maggiormente specifico per valutare lo stato muscolare<sup>54</sup>, non è stato misurato. L'utilizzo di IR specifici per il Dogue de Bordeaux aiuta quindi a non considerare malati animali che in realtà sono sani, soprattutto in merito alle diagnosi di pancreatite e sindrome nefrosica.

Per quanto riguarda le altre razze di grandi dimensioni, sono state valutate le differenze presenti tra 4 razze (Siberian Husky, Alaskan Malamutes, Golden Retrievers e Setter Inglese), ma i parametri biochimici ottenuti non

**È quindi opportuno definire appropriati IR, soprattutto nelle razze predisposte alla glomerulonefropatia giovanile, per evitare di sovradiagnosticare una sindrome nefrosica, condizione associata ad ipercolesterolemia.**

sono stati rapportati con gli IR non razza-specifici<sup>49</sup>. Queste 4 razze hanno dimostrato differenze statisticamente significative per la maggior parte degli analiti, ma queste differenze sono probabilmente da attribuire all'imprecisione analitica della metodica e non sembrano sufficienti per influenzare le decisioni cliniche<sup>49</sup> ed è quindi possibile utilizzare IR non razza-specifici, anche se la creazione di intervalli specifici per ogni razza permetterebbe una valutazione più accurata.

Nelle razze di taglia piccola sono state valutate eventuali differenze rispetto agli IR non razza-specifici nella concentrazione di urea, creatinina, proteine totali, albumina, glucosio, colesterolo e trigliceridi e nell'attività di ALT, AST e ALP<sup>50</sup>. Gli analiti che hanno dimostrato differenze statisticamente significative in base alla razza sono urea, ALT, ALP, proteine totali plasmatiche e albumina. La concentrazione media di urea si è dimostrata essere maggiore rispetto agli IR solo nel Barbone nano e nello Shi-Tzu. Tuttavia, anche se in queste 2 razze i valori medi dell'urea erano più alti rispetto agli IR non razza-specifici, i valori maggiori non superavano il limite superiore, ed è quindi possibile utilizzare degli IR non razza-specifici per valutare questo analita. Differenze nell'attività dell'ALT rispetto agli IR non razza-specifici sono state evidenziate solo nel Bichon-Frisé. Tuttavia, questa differenza era legata alla presenza di 2 Bichon-Frisé su 8 con ALT molto elevata (133 e 277 U/L) nonostante fossero animali giudicati sani, probabilmente come conseguenza dell'elevata variabilità inter- ed intra-individuale nell'attività di questo enzima. Le differenze nella concentrazione delle proteine plasmatiche totali, nella concentrazione dell'albumina e nell'attività dell'ALP, benché statisticamente significative, sono apparse clinicamente irrilevanti.

La proteina C-reattiva (CRP) è una delle proteine di fase acuta maggiore nei cani<sup>55</sup>; un suo innalzamento è stato dimostrato in corso di infezioni, traumi e neoplasie<sup>56</sup>. Differenze legate alla razza sono state valutate nello Schnauzer nano<sup>57</sup>, dove la concentrazione di CRP è stata misurata in 20 cani e il valore medio è risultato essere maggiore rispetto alle altre razze, anche se la concentrazione media di CRP in 17 cani sui 20 inclusi nel-

**Tabella 2 - Variazioni dei principali dati clinico-patologici nei cani non levrieri**

Parametri clinico-patologici	Dogue de Bordeaux	Bovaro del Bernese	Cavalier King Charles Spaniel	Cairn Terrier	Norfolk Terrier	Akita Inu	Schnauzer nano	Barbone nano	Shi-Tzu	Bichon Frisé
HCT	↑	↔								
RBC	↔	↔								
HGB	↑	↔								
MCV	↑	↔								
MCHC	↑	↑								
MPV	↑		↑	↑	↑	↑				
WBC	↔	↔								
PLT	↓	↔	↓	↓	↓	↓				
PCT	↓		↔	↔	↔	↔				
UREA	↔	↔						↑	↑	↔
CREATININA	↔	↔								
AST	↑							↔	↔	↑
ALT	↑	↔								
ALP	↔	↑								
GGT	↔	↑								
AMILASI	↔	↑								
LIPASI	↑	↔								
BILIRUBINA TOTALE	↔	↑								
COLESTEROLO	↑	↑								
PROTEINE TOTALI	↑	↔								
ALBUMINA		↔								
GLOBULINE TOTALI		↔								
APP							↑ (CRP)			
Ca++	↔	↔								
MACROPIASTRINE			Sì	Sì	Sì	Sì				

lo studio era sovrapponibile alla concentrazione media di CRP osservata nei cani sani utilizzati come controllo. Questa maggior concentrazione potrebbe essere razza-specifica e determinata su base genetica, come succede nell'uomo dove il 35-45% delle variazioni negli IR della CRP sono su base genetica<sup>58</sup>. Tuttavia gli autori non hanno potuto escludere totalmente che alcuni dei cani reclutati potessero avere delle patologie sub-cliniche, dato che la CRP è una marker di infiammazione molto precoce e sensibile, e l'aumento della sua concentrazione avviene prima di modifiche nella conta dei leucociti<sup>59</sup>. Nel-

**Nella valutazione dello stato di salute di questa razza bisogna comunque tenere presente la possibile maggiore concentrazione della CRP per evitare di considerare patologici animali che in realtà sono sani.**

la valutazione dello stato di salute di questa razza bisogna comunque tenere presente la possibile maggiore concentrazione della CRP per evitare di considerare patologici animali che in realtà sono sani.

Per quanto riguarda i parametri ormonali, nella maggior parte dei Dogue de Bordeaux la concentrazione del T4 totale è risultata essere inferiore agli IR non razza-specifici e nessun cane aveva una concentrazione di TSH aumentata o segni clinici di ipotiroidismo, come dimostrato anche nei Whippet<sup>28</sup>. Tuttavia nei Dogue de Bordeaux non è stato eseguito un test di stimolazione del TSH o la misurazione del free T4 e in assenza di questi test non è possibile dire se questa razza ha dei valori di riferimento minori rispetto alle altre razze o se nello studio sono stati inclusi cani ipotiroidici che hanno alterato gli IR<sup>48</sup>. In tabella 2 sono riassunte la maggior parte delle variazioni dei parametri ematologici e biochimici nei cani non-levrieri.



## CONCLUSIONI

L'enorme variabilità anatomica e fisiologica che caratterizza le quasi 400 razze di cane moderno riflette i numerosi ruoli che il cane ha ricoperto nei millenni passati accanto all'uomo, da aiuto nella caccia alla cura di bestiame e proprietà, da semplice animale da compagnia ad animale da soccorso.

Conseguenza di tutto ciò sono anche caratteristiche clinico-patologiche che possono differire significativamente da razza a razza. Stabilire quindi appropriati intervalli di riferimento specifici per razze, o gruppi di razze, diventa quindi uno strumento essenziale per una corretta diagnosi e gestione di molteplici situazioni patologiche.

### PUNTI CHIAVE

- Lo specifico background genetico, modellato dalla selezione per esaltare specifiche attività lavorative o aspetti morfologici, ha causato peculiarità anatomiche, fisiologiche e quindi clinico-patologiche in diverse razze o di gruppi di razze.
- I cani appartenenti al gruppo dei levrieri sono animali adatti alla corsa e presentano peculiarità che rispecchiano tale adattamento.
- Numerose razze di levrieri, hanno valori più alti rispetto ai cani "non-levrieri" di ematocrito HCT, HGB, MCV e MCHC per permettere una migliore performance atletica, elevata attività di ALT per le ampie masse muscolari e proteine totali e globuline minori per ridurre l'iperviscosità del sangue.
- Meno numerosi, ma in aumento, i lavori in cui sono stati determinati gli intervalli di riferimento per parametri ematologici e biochimici razza-specifici.
- Stabilire appropriati intervalli di riferimento specifici per razze, o gruppi di razze, diventa uno strumento essenziale per una corretta diagnosi e gestione di molteplici situazioni patologiche.

## Beyond the Greyhound: the effect of race on clinico-pathological data

### Summary

*The nearly 400 different breeds of modern dog were shaped by human beings during the last century and as results there is a wide range of different canine anatomical and physiological features. These differences are reflected in the exclusive clinico-pathological patterns present in some breeds or groups of breeds. Sighthounds are the most studied group of dogs due to their unique hematological and biochemical characteristics: greyhounds and other sighthounds have higher HCT, HGB, MCV, MCHC probably as an adaptation to ensure a superior athletic performance. Likewise, the lower serum protein and globulin values could be an adaptive mechanism to decrease serum viscosity in breeds with higher PCVs and, thus blood viscosity. In addition, in other breeds characteristic hematological and biochemical features are reported, such as the asymptomatic macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniel, Norfolk and Cairn Terrier. For these reasons, the use of reference intervals specific to different breeds is essential for a correct diagnosis and management of pathological conditions.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Druzhkova AS, Thalmann O, Trifonov VA, *et al.* Ancient DNA analysis affirms the canid from Altai as a primitive dog. *PLoS One* 8:0-5, 2013.
2. Parker HG, Dreger DL, Rimbault M, *et al.* Genomic analyses reveal the influence of geographic origin, migration, and hybridization on modern dog breed development. *Cell Reports* 19:697-708, 2017.
3. Parker HG. Genomic analyses of modern dog breeds. *Mammalian Genome* 23, 2012.
4. Parker HG, Kim LV, Sutter NB *et al.* Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science* 304:1160-1163, 2004.
5. Barnes J. The complete book of Greyhounds - 1994 - Julia Barnes. (House HB, ed.). New York; 1994.
6. Zaldívar-López S, Marín LM, Iazbik MC, *et al.* Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology* 40:414-25, 2011.
7. Novinger MS, Sullivan PS, McDonald TP. Determination of the lifespan of erythrocytes from greyhounds, using an in vitro biotinylation technique. *American Journal of Veterinary Research* 57:739-742, 1996.
8. Porter JA, Canaday WR. Hematologic values in mongrel and greyhound dogs being screened for research use. *Journal of American Veterinary Medical Association* 159:1603-1606, 1971.
9. Campora C, Freeman KP, Serra M, *et al.* Reference intervals for Greyhounds and Lurchers using the Sysmex XT-2000iV hematology analyzer. *Veterinary Clinical Pathology* 40:467-474, 2011.
10. Shiel RE, Brennan SF, O'Rourke LG, *et al.* Hematologic values in young

- pretraining healthy Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 36:274-277, 2007.
11. Uhríková I, Lačňáková A, Tandlerová K, *et al.* Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Australian Veterinary Journal* 91:452-459, 2013.
12. Horvath SJ, Couto CG, Yant K, *et al.* Effects of racing on reticulocyte concentrations in Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 43:15-23, 2014.
13. Iazbik MC, O'Donnell M, Marin L, *et al.* Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 39:433-435, 2010.
14. Iazbik MC, Couto CG. Morphologic characterization of specific granules in Greyhound eosinophils. *Veterinary Clinical Pathology* 34:140-3, 2005.
15. Giori L, Gironi S, Scarpa P, *et al.* Grey eosinophils in sighthounds: Frequency in 3 breeds and comparison of eosinophil counts determined manually and with 2 hematology analyzers. *Veterinary Clinical Pathology* 40:475-483, 2011.
16. Sheerer KN, Couto CG, Marin LM, *et al.* Haematological and biochemical values in North American Scottish deerhounds. *Journal of Small Animal Practice* 54:354-360, 2013.
17. Kelley J, Sharkey LC, Christopherson PW, *et al.* Platelet count and plateletcrit in Cavalier King Charles Spaniels and Greyhounds using the Advia 120 and 2120. *Veterinary Clinical Pathology* 43:43-9, 2014.
18. McDonald TP, Sullivan PS. Megakaryocytic and erythrocytic cell lines share a common precursor cell. *Experimental Hematology* 21:1316-20, 1993.
19. Mesa-Sanchez I, Zaldivar-Lopez S, Couto CG, *et al.* Haematological, blood gas and acid-base values in the Galgo Español (Spanish greyhound). *Journal of Small Animal Practice* 53:398-403, 2012.
20. Dunlop MM, Sanchez-Vazquez MJ, Freeman KP, *et al.* Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. *Journal of Small Animal Practice* 52:4-10, 2011.
21. Feeman WE, Couto CG, Gray TL. Serum creatinine concentrations in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 32:40-2, 2003.
22. Fayos M, Couto CG, Iazbik MC, *et al.* Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 34:397-400, 2005.
23. Clemente M, Marín L, Iazbik MC, *et al.* Serum concentrations of IgG, IgA, and IgM in retired racing Greyhound dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 39:436-439, 2010.
24. Couto CG, Cerón JJ, Parra M, *et al.* Acute phase protein concentrations in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 38:219-223, 2009.
25. Gaughan KR, Bruyette DS. Thyroid function testing in Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 62:1130-1133, 2001.
26. Shiel RE, Sist M, Raymond F. Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *Journal of American Veterinary Medical Association* 236:302-308, 2010.
27. Hill RC, Fox LE, Lewis DD, *et al.* Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 62:1969-72, 2001.
28. van Geffen C, Bavegem V, Duchateau L, *et al.* Serum thyroid hormone concentrations and thyroglobulin autoantibodies in trained and non-trained healthy whippets. *Veterinary Journal* 172:135-140, 2006.
29. Toll PW, Gachtgens P, Neuhaus D, *et al.* Fluid, electrolyte, and packed cell volume shifts in racing greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 56:227-232, 1995.
30. Lavoué R, Geffré A, Braun JP, *et al.* Breed-specific hematologic reference intervals in healthy adult Dogues de Bordeaux. *Veterinary Clinical Pathology* 43:352-361, 2014.
31. Nielsen L, Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, *et al.* Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 39:20-28, 2010.
32. Gookin JL, Bunch SE, Rush LJ, *et al.* Evaluation of microcytosis in 18 Shibas. *Journal of American Veterinary Medical Association* 212:1258-1259, 1998.
33. Schalm OW. Erythrocyte macrocytosis in miniature and toy poodles. *Canine Practice* 3:55-57, 1976.
34. Schalm OW. Erythrocyte macrocytosis in miniature poodles. *Californian Veterinarian* 30:29-33, 1976.
35. Canfield PJ, Watson AD. Investigations of bone marrow dyscrasia in a Poodle with macrocytosis. *Journal of Comparative Pathology* 101:269-278, 1989.
36. Hoareau GL, Jourdan G, Mellema M, *et al.* Evaluation of arterial blood gases and arterial BPs in brachycephalic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26:897-904, 2012.
37. Moritz A, Becker M. Automated hematology systems. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. *Shalm's veterinary hematology*. 6th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing; 1054-1066, 2010.
38. Weiss DJ. Histopathology of canine nonneoplastic bone marrow. *Veterinary Clinical Pathology* 15:7-11, 1986.
39. Mathers RA, Evans GO, Bleby J. Platelet measurements in rat, dog and mouse blood samples using the Sysmex XT-2000iV. *Comparative Clinical Pathology* 22:815-821, 2012.
40. Davis B, Toivio-Kinnucan M, Schuller S, *et al.* Mutation in beta1-tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22:540-545, 2008.
41. Gelain ME, Bertazzolo W, Tutino G, *et al.* A novel point mutation in the B1-tubulin gene in asymptomatic macrothrombocytopenic Norfolk and Cairn Terriers. *Veterinary Clinical Pathology* 43:317-321, 2014.
42. Pedersen HD, Häggström J, Olsen LH, *et al.* Idiopathic asymptomatic thrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels is an autosomal recessive trait. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 16:169-173, 2002.
43. Singh MK, Lamb WA. Idiopathic thrombocytopenia in cavalier King Charles Spaniels. *Australian Veterinary Journal* 83:700-703, 2005.
44. Tvedten H, Lillichöök I, Hillström A, *et al.* Plateletcrit is superior to platelet count for assessing platelet status in Cavalier King Charles Spaniels. *Veterinary Clinical Pathology* 37:266-271, 2008.
45. Cowan SM, Bartges JW, Gompf RE, *et al.* Giant platelet disorder in the Cavalier King Charles Spaniel. *Experimental Hematology* 32:344-350, 2004.
46. Schwer HD, Lecine P, Tiwari S, *et al.* A lineage-restricted and divergent beta-tubulin isoform is essential for the biogenesis, structure and function of blood platelets. *Current Biology* 11:579-86, 2001.
47. Hayakawa S, Spangler EA, Christopherson PW, *et al.* A novel form of macrothrombocytopenia in Akita dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 45:103-105, 2016.
48. Lavoué R, Geffré A, Braun JP, *et al.* Breed-specific biochemical reference intervals for the adult Dogue de Bordeaux. *Veterinary Clinical Pathology* 42:346-359, 2013.
49. Sharkey L, Gjevre K, Hegstad-Davies R, *et al.* Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 38:375-380, 2009.
50. Concordet D, Christine M, Gruet P, *et al.* Basal plasma concentrations of routine variables and packed cell volume in clinically healthy adult small-sized dogs: effect of breed, body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. *Veterinary Clinical Pathology* 43:371-380, 2014.
51. Ruau CG, Hons B. Diagnostic Approaches To Acute Pancreatitis. *Clinical techniques in small animal practice* 18:245-249, 2003.
52. Xenoulis PG, Steiner JM. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *Veterinary Journal* 183:12-21, 2010.
53. Lavoué R, Lugt JJ Van Der, Day MJ, *et al.* Progressive juvenile glomerulonephropathy in 16 related French Mastiff (Bordeaux) dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 314-322, 2010.
54. Stockham S, Scott MA. Proteins. In: Stockham S, Scott MA, eds. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing 370-405, 2008.
55. Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal* 185:23-7, 2010.
56. Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology* 34:85-99, 2005.
57. Wong VM, Kidney BA, Snead ECR, *et al.* Serum C-reactive protein concentrations in healthy Miniature Schnauzer dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 40:380-383, 2011.
58. Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, *et al.* Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: The NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 154:681-689, 2001.
59. Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, *et al.* Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Canadian Veterinary Journal* 55:161-168, 2014.