

AVALIAÇÃO DA PROTEÍNA C REATIVA, GLICOPROTEÍNA ÁCIDA E VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL

 <https://doi.org/10.56238/arev6n4-230>

Data de submissão: 14/11/2024

Data de publicação: 14/12/2024

Camila André Fiorato

Mestre em Produção Sustentável e Saúde Animal pela Universidade Estadual de Maringá (UEM)
Centro Universitário Ingá - UNINGÁ
E-mail: camila_andre_fiorato@hotmail.com
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7394939250109056>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5906-5747>

Juliano Bortolo de Conti

Doutor em cirurgia Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP)
Universidade Estadual de Maringá, campus Umuarama-PR
E-mail: julianodeconti@yahoo.com.br
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5122616256578772>

Paula Fernanda Massini

Doutora em Ciência Animal pela Universidade Estadual de Londrina (UEL)
Universidade Estadual de Maringá, campus Umuarama-PR
E-mail: paulavetmassini@gmail.com
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0056470002139159>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3244-3044>

Nathalia Khalil Frossard

Graduanda em Medicina Veterinária
Universidade Estadual de Maringá, campus Umuarama-PR
E-mail: nathkhalil@hotmail.com
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4288490058443593>
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4447-622>

RESUMO

O estudo objetiva-se avaliar a resposta inflamatória na articulação coxofemoral em cães displásicos afim de realizar uma comparação entre achados laboratoriais do líquido sinovial: contagem de células nucleadas e seu diferencial: células mononucleadas e polimorfonucleadas, análise das proteínas de fase aguda: α 1- glicoproteína ácida, proteína C reativa e a Velocidade de hemossedimentação, com os achados radiográficos da articulação coxofemoral em cães com Displasia Coxofemoral sintomáticos e assintomáticos. Foram avaliados 30 cães no experimento, dispostos em 3 grupos experimentais. O primeiro grupo reuniu 10 animais hígidos (Grupo controle - GC), o segundo 10 animais com displasia coxofemoral sintomático (Grupo 1 – G1) e o terceiro 10 animais com displasia coxofemoral sem sintomatologia (Grupo 2 - G2). Observou-se um aumento significativo da VHS no grupo sintomático, corroborando com a hipótese de que em animais com sinais clínicos da doença apresentam inflamação na articulação coxofemoral. A VHS é útil na avaliação do processo inflamatório em cães sintomáticos, indicando um processo inflamatório agudo. Já a mensuração de AGP e PCR por imunoturbidimetria não conferem resultados plausíveis de inflamação nas osteoartroses de cães displásicos, tornando-se

um biomarcador ineficaz para o monitoramento da doença. Sugere novos estudos de outros biomarcadores inflamatório para a doença estudada.

Palavras-chave: Alpha-1 Glicoproteína Ácida, Inflamação, Osteoartrose, Proteína C-reativa, Velocidade de Hemossedimentação.

1 INTRODUÇÃO

A displasia coxofemoral (DCF) é uma patologia do desenvolvimento que afeta a cabeça do fêmur e o acetáculo, possui uma etiologia complexa que acomete uma significativa parcela dos animais domésticos. Essa má-formação se manifesta por meio da combinação entre genótipo do indivíduo, a genética do animal, nutrição e fatores ambientais aos quais ele foi exposto durante sua fase de desenvolvimento (CARNEIRO *et al.*, 2006; REGONATO *et al.*, 2011).

É uma doença biomecânica na qual a instabilidade do quadril nos cães jovens altera a concentração de forças no fêmur e acetáculo em crescimento, afetando o desenvolvimento ósseo e resultando em conformação articular anormal, frouxidão articular e osteoartrose, também conhecida como doença articular degenerativa (KAPATKIN *et al.*, 2002; SMITH, 2004).

A osteoartrose é um processo degenerativo da cápsula articular de evolução crônica, a osteoartrose do quadril tem envolvimento inicial na cartilagem articular e depois o osso subcondral, e formação de osteofitos, caracterizada com a presença de dor, e diminuição no espaço articular (COIMBRA *et al.*, 2002; VANNI *et al.*, 2008; BENNEL e HINMAN, 2011; PASTORE *et al.*, 2013). Seu diagnóstico é realizado a partir do exame radiográfico, nota-se presença de osteofitos, diminuição do espaço articular, esclerose do osso subcondral e presença de remodelação óssea (PELLETIER *et al.*, 2001).

As PFAs podem ser utilizadas como biomarcadores promissores da inflamação, infecção ou trauma, por possuírem características particulares de aumento precoce e fácil detecção plasmática, sendo cada vez mais empregadas para fins de diagnóstico em doenças específicas (SCHRODL *et al.*, 2016).

A Velocidade de Hemossedimentação (VHS) é um exame que avalia a sedimentação das hemácias, é método indireto para avaliação de atividade inflamatória, (COLLARES e VIDIGAL, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2013).

O objetivo do trabalho é avaliar a resposta inflamatória da articulação coxofemoral por meio da análise laboratorial do líquido sinovial e análise de biomarcadores inflamatórios séricos em cães com displasia coxofemoral.

2 METODOLOGIA

Foram avaliados 30 cães no experimento, dispostos em 3 grupos, sendo 10 animais hígidos no grupo controle (GC), 10 animais com displasia coxofemoral sintomáticos no grupo 1 (G1) e 10 animais com displasia coxofemoral sem sintomatologia no grupo 2 (G2). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal (CEUA) da Uningá, sob o PM 04/2017.

Todos os animais passaram por anamnese, exame físico completo e exame ortopédico segundo exame hematológico e ultrassonografia abdominal para descartar outras doenças associadas.

Para avaliação da deambulação foi aplicada uma escala analógica de claudicação, descrita no quadro 1 (HUDSON, 2004).

Quadro 1 - Escala analógica de claudicação à deambulação

ESCORES DE AVALIAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO DE CLAUDICAÇÃO
0	Ausente
1	Intermitente
2	Contínua e Discreta
3	Contínua e Moderada
4	Intensa

Fonte: HUDSON, 2004.

Os critérios de inclusão foram: Animais com idade entre 2 e 10 anos e com peso acima de 17 Kg, para o grupo controle. E para os demais grupos idade entre 6 meses a 10 anos e com peso acima de 17kg, de diferentes raças e ambos os sexos. E com o diagnóstico radiográfico confirmatório de displasia coxofemoral, utilizando a classificação da *Orthopedic Foundation for Animals* (OFA, 2017).

Não foram aceitas fêmeas gestantes ou em estro, devido ao possível aumento de frouxidão articular pelas variações hormonais, transcorrendo em alterações nos resultados (OFA, 2017). Animais que estivessem utilizando medicação analgésica e anti-inflamatório nos últimos 15 dias e animais que apresentavam afecções ortopédicas sem relação com a DCF. Além de animais que apresentassem outra afecção de caráter sistêmico inflamatório e/ou infeccioso.

As imagens radiográficas e coleta do líquido foram realizadas sob jejum alimentar e hídrico de 6 horas. Para o posicionamento radiográfico os animais foram sedados com acepromazina (0,05mg/Kg), e meperidina (5mg/Kg), associado ao midazolam (0,3mg/Kg), todos por via intramuscular. E para a coleta do líquido sinovial utilizou-se propofol na dose de 2-4mg/Kg, via endovenosa.

O posicionamento radiográfico para articulação coxofemoral seguiu a técnica descrita pela *American Veterinary Medical Association* (OFA, 2017). Todas as radiografias foram realizadas com aparelho digitalizado Konica® e Raio-X Ezy rad®, sendo calibrado segundo Feliciano *et. al.* (2015). O diagnóstico de Displasia Coxofemoral foi realizado com o parâmetro de classificação do grau da displasia seguindo a avaliação da *Orthopedic Foundation for Animals* (OFA, 2017).

A coleta do líquido sinovial foi realizada imediatamente após o exame radiográfico, utilizando a técnica descrita por Piermattei (2006). Para sua análise este foi em solução fisiológica em 1:6 da amostra de líquido sinovial (50uL de solução fisiológica + 10 uL de amostra). Tal diluição permitiu

que a amostra, extremamente viscosa, adquira um aspecto mais aquoso. Desta forma, é possível que as células sedimentem de forma mais eficaz e a contagem de células se torna muito mais confiável. As células (/uL) foram contadas em quatro quadrados grandes na câmara de Neubauer. O número de células contadas foi corrigido utilizando-se os fatores: altura da câmara (x10), diluição (x6) e quantidade de quadrados contatos (/4).

A diferenciação das células nucleadas em polimorfonucleares ou mononucleares foi feita por meio de análise microscópica de esfregaços confeccionados pela técnica de squash ou esmagamento. Os esfregaços foram corados com corante rápido tipo Romanowsky (Instant – Prov, NEWPROV®). Foram identificados 100 leucócitos em aumento de 40x em microscópio Eclipse E200 - Nikon®.

A coleta do sangue se deu por punção da veia jugular. Foram colhidos 10 ml de sangue, sendo 5 ml foram em tubo com EDTA K3, e 5 ml em tubo com gel ativador de coágulo. Todas as amostras foram imediatamente analisadas utilizando equipamento automatizado Mindray BC-2800Vet®. E a contagem do diferencial das células nucleadas sob análise microscópica.

A VHS foi aferida sob o método de Westergren, utilizando pipeta específica para a técnica, o sangue venoso com anticoagulante EDTA K3 foi pipetado em um tubo de vidro com 200 mm de altura e 2,5 mm de diâmetro, e colocado em coluna vertical, após decorrido 1 hora, foi realizado a leitura corresponde à distância entre o menisco do plasma e a coluna de hemácias, medida em mm/h, estimando a velocidade da sedimentação das hemácias no intervalo de uma hora. O exame foi realizado em temperatura ambiente entre 20 e 25 °C e no abrigo de luz solar, seguindo a técnica descrita por Epaminondas (2015).

O soro obtido do tubo com gel ativador de coágulo, foi centrifugado (1.500g/5 minutos) para a dosagem sérica da α 1- glicoproteína ácida e Proteína C-Reativa. O soro foi estocado em dois tubos eppendorfs de 2ml há –20°C até a realização do exame.

As dosagens bioquímicas séricas de Proteína C-Reativa e α -1glicoproteína ácida, foram realizados no aparelho bioquímico semi-automático Bioplus BIO200® de acordo com metodologia fornecida pelo fabricante BioTécnica®. A APG foi realizada por espectrometria e utilizado uma curva de calibração com o Controle Multiparametro Médio®. O PCR foi realizado por ensaio turbidimétrico e utilizado o calibrador controle reumático nível 1®. Todas as análises clínicas foram feitas pelo mesmo profissional habilitado na área.

Para a análise estatística, foram realizados os pressupostos básicos de normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk; $p \leq 0,05$) e homogeneidade das variâncias (teste de Levene; $p \leq 0,05$). Os dados foram comparados por meio de análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância pelo teste F, pelo teste de Tukey a 5% de significância. Estas análises foram realizadas utilizando-se o

software Sisvar® versão 5.3 (FERREIRA *et al.*, 2014). Foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson (STEEL *et al.*, 1997) entre todas as variáveis avaliadas, sendo validado pelo teste T ($p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$).

3 RESULTADOS

Participaram do estudo 30 cães, sendo 10 animais no grupo controle, 10 animais no grupo sintomático e 10 no grupo assintomático. Dentre eles foram encontradas 63,3% fêmeas e 36,6% macho, de diferentes raças, com idade entre 1 e 10 anos, o peso variou entre 17 e 46kg com média de 28,8kg. Nestes animais foram avaliados o grau de displasia coxofemoral segundo a *Orthopedic Foundation for Animals* (OFA), o grau de claudicação, o líquido sinovial coletado da articulação coxofemoral, a Velocidade de Hemossedimentação (VHS) e os biomarcadores inflamatórios Alpha-1 Glicoproteína Ácida (AGP), Proteína C-Reativa (PCR). A quantidade de líquido sinovial coletado variou entre 20 μ l e 4ml, com média de 200 μ l.

No estudo foi observado um aumento significativo da Velocidade de Hemossedimentação no grupo dos animais com sinais clínicos em relação ao controle e grupo assintomático com P valor de 0,05. O grau de Claudicação, mostrou uma diferença significativa $p \leq 0,05$ no grupo sintomático, em relação aos demais. Assim como o grau radiográfico segundo a OFA também foi estatisticamente significativo, com valor maior no grupo sintomático e assintomático em relação ao grupo controle.

Os valores de AGP, contagem total de células nucleadas, e contagem de células mononucleadas e polimorfonucleadas no líquido sinovial não tiveram significância estatística entre os grupos.

A correlação entre os biomarcadores inflamatório, líquido sinovial, grau de displasia e grau de claudicação foram avaliados nos 3 grupos, correlacionados dois a dois. No grupo 1 (CONTROLE) observou uma correlação muito forte e significativa pelo teste t há $p \leq 0,01$ entre VHS X PMN ($r=0,956$ e $p=9,228$), e entre a CÉL. NUCL. X PCR que teve uma forte correlação e significativa há $p \leq 0,05$ ($r=0,736$ e $p=3,077$). No grupo 2 (SINTOMÁTICOS) os valores das correlações apresentaram correlações positivas moderadas e fracas, não obtiveram significância pelo teste. No grupo 3 (ASSINTOMÁTICO) foi observado uma correlação forte entre o AGP X OFA com significância a 5% ao teste t ($r=0,684$ e $p=2,655$).

4 DISCUSSÃO

Níveis superiores de VHS foram observados no grupo sintomático, sugerindo um que a doença sintomática, promove processo inflamatório sistêmico, quando comparados aos controles e grupo assintomático. A PCR, AGP, na metodologia realizada por meio de turbidimetria e espectrofotometria,

respectivamente, não foram eficazes com biomarcadores inflamatórios, obtendo mensuração abaixo do valor de referência.

Os valores da PCR não obtiveram mensuração confiável, com intervalos abaixo da sensibilidade analítica do teste, necessitam de técnicas mais sensíveis e específicas, como a realização do teste imunoturbidimétrico ultrassensível, que detecta valores menores, ou pelo ensaio ELISA para determinação da PCR canina, espécie-específicos.

Vecina (2009) em seu estudo avaliou o processo inflamatório em diversos cães, onde a PCR foi mensurada pela técnica de imunoturbidimetria automatizada e por ELISA. A técnica de imunoturbidimetria para determinação dos valores de PCR pelo equipamento hematológico automatizado mostrou-se inadequada para amostras de sangue canino. Não havendo leitura em nenhuma das amostras testadas, tanto em cães hígidos como convalescentes (VECINA, 2009). Na mensuração com o kit comercial para caninos ELISA os valores foram eficazes e confiáveis. Yamamoto *et al.* (1992) e Martínez-Subiela *et al.* (2004) afirmam que valores menores que 1 µg/ml (1 mg/L) devem ser interpretados com cautela, pois podem ser influenciados pelas condições analíticas.

A AGP foi mensurada pelo método imunoturbidimétrico em que anticorpos anti-alfa-1 glicoproteína acida humana, formam com a alfa-1 glicoproteína acida, um complexo insolúvel dando uma turbidez cuja intensidade é proporcional a concentração de alfa-1 glicoproteína acida da amostra, determinada em espectrofotômetro a 340 nm. A mensuração de todas as amostras conferiu em valores abaixo do valor de referência em todas as amostras.

Hayashi *et al.*, (2001) sugeriu que o AGP sérico pode ser um marcador útil de inflamação aguda em dano tecidual, incluindo cirurgia, e relatou que cães com doenças crônicas associadas a pouca inflamação, apresentam concentrações de AGP dentro do intervalo de referência.

Valores aumentados dessa proteína são observados em casos de hepatite, parvovirose, cinomose, piometra, filariose, insuficiência renal, urolitíase, anemia imunomediada, trauma, hepatite, pancreatite e hiperadrenocorticismo (YUKI *et al.*, 2010), porém nas osteoartrose de quadril em cães este biomarcador não é útil para o monitoramento da doença.

A VHS, por outro lado, embora seja um teste inespecífico, mostrou resultados interessantes que, associados ao baixo custo, rapidez e facilidade de execução, pode ser utilizada na identificação de processo inflamatório em quadros de displasia coxofemoral. A elevação da VHS foi observada em 70% dos animais do grupo sintomático. Sugerindo processo inflamatório, sendo o marcador mais sensível utilizado no estudo.

Foram observadas diferenças entre os grupos assintomáticos, sintomáticos e grupo controle. Sabe-se que a VHS permanece elevada durante o processo inflamatório, pois é influenciada pela

concentração das PFAs, como a PCR (SCHUTZE, 2000). Podendo ser influenciada por outros fatores como a presença de anemia e mudanças morfológicas dos eritrócitos, o que não ocorre com a concentração das PFAs. Os animais utilizados na pesquisa não apresentavam tais alterações hematológicas em nenhum dos grupos.

Existem algumas variações descritas deste método, como o uso de sangue anticoagulado com EDTA ou sob a diluição com citrato de sódio ou salina (COLLARES, 2004; EPAMINONDAS *et al.*, 2015). No presente trabalho foi realizado a VHS a partir do sangue coletado com anticoagulante EDTA, sem diluição. Hachem *et al.*, (2010) analisou o método com anticoagulante EDTA sem diluição, os resultados deste estudo demonstraram que na média geral, não houve diferença significativa entre a não-diluição do sangue com EDTA com relação ao método padrão ouro preconizado.

Outros estudos demonstram que a partir de valores acima de 30mm/h, os valores da VHS pelo método sem diluição tendem a apresentarem resultados maiores do que os obtidos pela técnica com diluição em citrato ou solução salina, corroborando com a teoria de que o citrato, pode retardar a sedimentação eritrocitária (BUCK *et al.*, 2015; MERISIO e ALFF, 2013; EPAMINONDAS *et al.*, 2015).

O uso da quantificação dessas proteínas inflamatórias aumentou consideravelmente na última década (KJELGAARD-HANSEN e JACOBSEN, 2011; HILLSTRÖM *et al.* 2014), considerando que durante o processo inflamatório, previamente ao aumento das PFS, ocorre um aumento dos níveis circulantes de citosinas como a IL-1, TNF- α e a IL-6 (ECKERSALL e BELL, 2010; CRISPE, 2016), uma opção seria a mensuração dessas citocinas como avaliação do grau de inflamação nos animais com displasia coxofemoral, e desta forma instituir o melhor tratamento para cada animal.

A contagem total de células do líquido sinovial em processos de osteoartrose pode apresentar valores normais ou levemente aumentados, com predominância de células mononucleadas, e uma quantidade de polimorfonucleadas, com neutrófilos normal ou ligeiramente aumentada (TATARUNAS *et al.*, 2004). Segundo Innes, 2012 cães hígidos apresentam total de células nucleadas e inferior a 2×10^9 /L com 94 a 100 % de células mononucleadas e 0-6% de células polimorfonucleadas. Já nos casos de osteoartrose a quantidade de células nucleadas varia de 2 a 5×10^9 /L com 88 a 100 % de células mononucleadas e 0-12% de células polimorfonucleadas. Este estudo revelou uma quantidade elevada de células nucleadas no grupo G1 ($< 6 \times 10^9$ /L). Quando confrontados os achados entre os grupos, não houve diferença significativa

5 CONCLUSÃO

Os dados obtidos com a pesquisa comprovaram que a VHS pode ser utilizada para avaliação do processo inflamatório de cães com sintomatologia positiva para displasia coxofemoral, indicando a presença de processo inflamatório. O mesmo não ocorre com a mensuração de AGP e PCR por imunoturbidimetria, que mostram baixa sensibilidade para detectar processos inflamatórios na osteoartrose de cães displásicos.

REFERÊNCIAS

- BARROS, G. S.; VIEIRA, G. L. T.; VIANNA, L. R. et al. Frequência da displasia coxofemoral em cães da raça Pastor Alemão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, n. 6, p. 1557-1559, 2008.
- BENNELL, K. L.; HINMAN, R. S. A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 14, n. 1, p. 4-9, 2011.
- BUCK, A.; VELASQUEZ, P. G.; DÜSMAN, E. Análise comparativa das diferentes diluições para avaliação da velocidade de hemossedimentação-vhs. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR, Umuarama*, v. 15, n. 3, p. 213-218, 2011.
- CARNEIRO, S. C. M. C.; FERREIRA, R. P.; FIORAVANTI, M. C. S. et al. Superalimentação e desenvolvimento do esqueleto de cães da raça Dogue Alemão: aspectos clínicos e radiográficos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 58, n. 4, p. 511-517, 2006.
- CARRIG, COLIN B. Diagnostic imaging of osteoarthritis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 27, n. 4, p. 777-814, 1997.
- CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, v. 34, p. 85-99, 2005.
- COIMBRA, I. B.; PASTOR, E. H.; GREVE, J. M. D. et al. Consenso brasileiro para o tratamento da osteoartrite (artrose). *Ver Bras Reumatol*, v. 42, n. 6, p. 371-374, 2002.
- COLLARES, G. B.; VIDIGAL, P. G. Recomendações para o uso da velocidade de hemossedimentação, *Rev Med Minas Gerais*, v. 14, n. 1, p. 52-7, 2004.
- CORADINI, G. P. Associação de midazolam e neuroleptoanalgesia para estudo radiográfico de articulação coxofemoral em cães da raça pastor alemão. 2014. 22 fls. Monografia de especialização (Residência Médico-Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- CRISPE, I. N. Hepatocytes as Immunological Agents. *The Journal of Immunology*. v. 196, n. 1, p. 17-21, 2016.
- ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation. *Vet J*. v. 185, p. 23–27, 2010.
- EPAMINONDAS, K. L.; NETO J. R. M.; FIGUEIREDO, R. M. et al. Comparação do uso de edta e citrato de sódio na realização da técnica de velocidade de hemossedimentação (vhs) pelo método de westergren automatizado. *Electronic Journal of Pharmacy*, v. 12, Suplemento, p. 62-63, 2015.
- FELICIANO, M. A. R.; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. Diagnóstico por imagem em cães e gatos. 1 ed. São Paulo: Editora MedVep. p. 4-21, 2015.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

GUIMARÃES A. D. O.; BRITO, A. M. G.; GOES, C. S. et al. Proteína C reativa e velocidade de hemossedimentação na avaliação laboratorial de processos inflamatórios. *Scire Salutis.* v. 4, n. 1, 2013.

HACHEM, R. H.; HENNEBERG, R.; NASCIMENTO, A. J.; et al. Velocidade de hemossedimentação (vhs) sem diluição: metodologia confiável? *Visão Acadêmica,* v.11, n.2, 2010.

HAYASHI S.; JINBO T.; IGUCHI T.; et al. A comparison of the concentrations of C-reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation. *Vet Res Commun.* v. 25, p. 117- 126, 2001.

HENRY, G. A. Radiographic development of canine hip dysplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice,* v. 22, n. 3, p. 559-578, 1992.

HILLSTRÖM, A.; HAGMAN, R.; TVEDTEN, H. et al. Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein. *Veterinary Clinical Pathology,* v. 43, n. 2, p. 235-243, 2014.

HUDSON J., SLATER M. R., TAYLOR L. et al. Assessing repeatability and validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in dogs. *Am. J. Vet. Res.,* v. 65, n. 12, 1634-1643. 2004.

INNES, J. F. Arthritis. In: TOBIAS, K. M.; JOHNSTON, S. A., *Veterinary surgery: small animal.* St. Louis, Missouri. Elsevier, v. I, p.1078-1111, 2012.

KAPATKIN, A. S.; FORDYCE, H. H.; MAYHEW, P. D. et al. Canine hip dysplasia: The disease and its diagnosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian,* v. 24, p. 526- 537, 2002.

KJELGAARD-HANSEN, M.; JACOBSEN, S. Diagnostic Applications of Major Acute-phase Protein Testing in Companion Animals. *Clin Lab Med* v. 31, p. 51-70, 2011.

KLENNER, S., BAUER, N.; MORITZ,A. Evaluation of Three Automated Human Immunoturbidimetric Assays for the Detection of C-Reactive Protein in Dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* v. 22, Issue 4, 2010.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; GINEL, P. J.; CERÓN, J. J. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase protein in dogs. *Veterinary Record.* n. 154, p. 814- 817, 2004.

MERISIO, P. R., ALFF F. A. Comparativo das Técnicas do Exame de Velocidade De Hemossedimentação (VHS) Descrita por Westergren com Citrato e a Usual com Edta. *NewsLab.* v. 120, p. 76 – 81, 2013.

NOGUEIRA S. R.; TUDURY E. A. Exame clínico ortopédico de cães e gatos - parte 1. *Clínica Veterinária.* ed. 36, 2002.

OFA - Orthopedic Foundation for Animals. What is Hip Dysplasia? Set. 2017. Disponível em: <http://www.ofa.org/hd_procedures.html>. Acessado em 20/11/2017.

PASTORE, A. P.; MATTES, B. R., ARAZI, M. F. R. et al. Fisioterapia no tratamento de osteoartrose em gatos-relato de caso. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 11, n. 2, p. 55-56, 2013.

PELLETIER, J. P.; MARTEL-PELLETIER, J.; ABRAMSON, S. B. Osteoarthritis, an Inflammatory Disease: Potential Implication for the Selection of New Therapeutic Targets. *Arthritis & rheumatism*. v.44, n. 6, p. 1237–1247, 2001,

PIERMATTEI D., et al. *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture /Repair*. 4^a ed. Missouri: Editora Saunders, 2006.

REGONATO, E.; CRUVINEL, C. A. T.; CANOLA, J. C. et al. Utilização do Autocad 2007 para mensuração dos valores do ângulo de norberg e porcentagem de cobertura acetabular em cães. *Ars Veterinaria*, v. 27, n. 4, 197-204, 2011.

SCHRODL, W.; BÜCHLER, R.; WENDLER, S. et al. Acute phase proteins as promising biomarkers: Perspectives and limitations for human and veterinary medicine. *Proteomics Clinical Applications*.v. 10, n. 11, p. 1077-1092, 2016.

SCHUTZE, A. E. Interpretation of canine leukocyte responses. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lippincott Willian & Wilkins, 5. ed., cap. 55, p. 366-381, 2000

SMITH, G. K. New paradigms for hip dysplasia prevention and control: performance and ethics of CHD screening as an indication for preventive strategies. 12th ESVOT Congress. p. 125-131, Munich, 2004.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. A. et al. *Principles and procedures of statistic: a biometrical approach*. 3. ed. New York: McGraw Hill Book,1997.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; FRANCHINI, M. L. Análise de líquido sinovial em cães: revisão de literatura. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 7, n. 1/3, p. 07-14, 2004.

TAYLOR, S. M. Disorders of the Joints. In: Nelson, R. W. & Couto, C. G., *Small Animal Internal Medicine*, Mosby Elsevier, 4. Ed, p 1127-1128, 2009.

VANNI, G. F.; STUCKY, J. M.; SCHWARSTMANN, C. R. Avaliação radiológica do espaço articular na artrose do quadril:estudo comparativo em decúbito e ortostatismo. *Revista Brasileira de Ortopedia*,v. 43, n. 10, p. 460-464, 2008.

VECINA J. F. Avaliação dos marcadores da resposta inflamatória aguda em cães. 2009. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciência Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

YAMAMOTO, S.; TAGATA, K.; NAGAHATA, H. et al. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. n. 30, v. 4, p. 329-39. 1992.

YUKI, M.; ITOH, H.; TAKASE, K. Serum α -1-acid glycoprotein concentration in clinically healthy puppies and adult dogs and in dogs with various diseases. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 39, n. 1, p. 65-71, 2010.