



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



**DETERMINAÇÃO DAS PRINCIPAIS PROTEÍNAS DE
FASE AGUDA E DO ÍNDICE PROGNÓSTICO
INFLAMATÓRIO NUTRICIONAL (IPIN) EM CACHORRO-
DO-MATO (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766)**

Rogério Magno do Vale Barroso

Médico Veterinário

Mestre em Ciências Veterinárias

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

2016

ROGÉRIO MAGNO DO VALE BARROSO

**DETERMINAÇÃO DAS PRINCIPAIS PROTEÍNAS DE
FASE AGUDA E DO ÍNDICE PROGNÓSTICO
INFLAMATÓRIO NUTRICIONAL (IPIN) EM CACHORRO-
DO-MATO (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766)**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
Veterinária - UFU, como requisito parcial para
a obtenção do título de Doutor em Ciências
Veterinárias - Saúde Animal.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto
Santos

UBERLÂNDIA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- B277d
2016 Barroso, Rogério Magno do Vale, 1974
Determinação das principais proteínas de fase aguda e do índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN) em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766) / Rogério Magno do Vale Barroso. - 2016.
64 f. : il.
- Orientador: André Luiz Quagliatto Santos.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.
1. Veterinária - Teses. 2. Animais selvagens - Teses. 3. Proteínas - Análise - Teses. I. Santos, André Luiz Quagliatto. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Rogério Magno do Vale Barroso - é natural de Belo Horizonte, nasceu em 09 de agosto de 1974. Graduiu-se em Medicina Veterinária em 2002 pela primeira turma da Universidade de Franca/SP, concluiu o Mestrado em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia em 2005. Foi professor substituto da Faculdade de Veterinária da Universidade de Brasília entre 2004 e 2005, professor dos cursos de Medicina, Farmácia, Nutrição e Fisioterapia do Centro Universitário do Espírito Santo – UNESC em Colatina/ES. Nesta mesma Instituição foi responsável pela implantação do curso de Medicina, autor do projeto de curso de Medicina Veterinária e seu primeiro coordenador, responsável ainda pelos projetos, implantação e coordenação do biotério e laboratório de técnica operatória e cirurgia experimental entre os anos de 2006 a 2011. Coordenador e professor do curso de Medicina Veterinária da Escola São Francisco de Assis – ESFA em Santa Teresa/ES desde 2012. É revisor de diversos periódicos na área de Medicina Veterinária, Conselheiro Efetivo, membro da Comissão de Ensino e Presidente da Comissão de Divulgação do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Espírito Santo na gestão 2012/14 e membro da Comissão Nacional de Educação em Medicina Veterinária do Conselho Federal de Medicina Veterinária. Sócio proprietário do Laboratório de Saúde Animal – LASA em Colatina/ES.

EPÍGRAFE

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcuta)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Clóvis e Maria que nunca pouparam esforços para deixar aos seus filhos o maior legado de todos: os estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos pela oportunidade de compartilhar seu conhecimento e dedicação.

A Universidade Federal de Uberlândia que me recebeu durante o mestrado e doutorado.

Aos professores da pós graduação da UFU que contribuíram para a minha formação, aos colegas Thais Carneiro, Liliane Rangel e Evandro Canelo e aos funcionários do LAPAS-UFU.

A Paula de Oliveira Braga pela paciência, compreensão e amor.

Aos meus amigos, Fernando Vicentini, João Rossi, Milena Carneiro, Saulo e Douglas Severo pelo auxílio e apoio.

A Escola Superior São Francisco de Assis – ESFA que me possibilitou a presença em todas as atividades do doutorado facilitando minhas trocas de horários de aulas e de coordenação.

Ao meu amigo e irmão Alexandre Granados pela compreensão da minha ausência durante o doutorado.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO -----	15
2 - REVISAO DE LITERATURA -----	19
2.1 - Características da inflamação -----	22
2.1.1 - Resposta fase aguda-----	22
2.1.1.1 – Citocinas e a resposta de fase aguda -----	24
2.1.1.1.1 - <i>Classificação</i> -----	27
2.1.1.1.2 - <i>Modo de ação</i> -----	27
2.1.1.1.3 - <i>Síntese</i> -----	27
2.1.1.1.4 - <i>Concentração plasmática</i> -----	27
2.1.1.2 - Principais proteínas de fase aguda -----	28
2.1.1.2.1 - <i>Proteína C reativa</i> -----	28
2.1.1.2.2 - <i>Albumina</i> -----	32
2.1.1.2.3 - <i>Transtirretina (pré-albumina)</i> -----	33
2.1.1.2.4 - <i>Haptoglobina</i> -----	34
2.1.1.2.5 - <i>Alfa 1 Glicoproteína ácida</i> -----	35
2.1.1.2.5 - <i>Ceruloplasmina</i> -----	36
2.1.1.3 - IPIN-----	37
MATERIAIS E MÉTODOS-----	39
RESULTADOS -----	43
CONCLUSAO-----	53
REFERENCIAS -----	54
ANEXOS -----	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – Hormônio adrenocorticotrópico

CP - Ceruloplasmina

GPA – Glicoproteína ácida

Hp - Haptoglobina

IL - Interleucina

IPIN – Índice prognóstico inflamatório nutricional

IUCN – União internacional para a conservação da natureza e dos recursos naturais

PCR – Proteína C reativa

PFA_n – Proteína de fase aguda negativa

PFA_p – Proteína de fase aguda positiva

PFA_s – Proteínas de fase aguda

RFA – Reação de fase aguda

SAA – Soro amiloide A

TNF – Fator de necrose tumoral

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Resultados das análises realizadas em amostras de 8 exemplares de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) para albumina, alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, pré albumina e haptoglobina ----- 43

TABELA 2 – Limites inferiores e superiores para albumina, alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, pré albumina e haptoglobina em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) encontrados através do teste de Kolmogorov-Smirnov em intervalo de confiança de 95% ----- 44

TABELA 3 – Correlação dos valores de transtirretina e demais proteínas de fase aguda com situação clínica em humanos descrito por Cynober (2009) --- 50

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Exemplar de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) -----	14
FIGURA 2 – Distribuição espacial de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) ---	14
FIGURA 3 – Exemplar de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) -----	19
FIGURA 4 – cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) atropelado no cerrado do Brasil -----	20
FIGURA 5 – Alterações produzidas durante a resposta de fase aguda-----	23
FIGURA 6 – Desencadeamento da resposta de fase aguda com diferentes tipos de estimulação hepática -----	24
FIGURA 7 – Colheita de amostra de sangue por acesso jugular em Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) -----	39

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Limites inferiores e superiores de albumina sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) descritos por Novais *et al.* (2005) em * e valores encontrados no presente estudo em ** ----- 44

GRÁFICO 2 – Limites inferiores e superiores de alfa 1 glicoproteína ácida sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Kogica *et al.* (2003) ----- 46

GRÁFICO 3 – Limites inferiores e superiores de proteína C reativa (PCR) em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e valor referência em cão doméstico saudável descrito por Mischke *et al.* (2007) ----- 47

GRÁFICO 4 – Limites inferiores e superiores de pré-albumina (transtirretina) sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Piechotta *et al.* (2012) ----- 49

GRÁFICO 5 – Limites inferiores e superiores de haptoglobina sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Ceron *et al.* (2005)----- 51

RESUMO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766) é um canídeo de médio porte com distribuição ampla na América do Sul e que ocorre em quase todo o Brasil. Dentre as principais ameaças à sua conservação estão os atropelamentos causados principalmente pela perda de habitat. A escassez de dados laboratoriais de cachorro-do-mato prejudica o atendimento médico veterinário dificultando a aplicação de terapias adequadas. Este trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de Proteína C Reativa, Albumina, Pré-albumina, Ceruloplasmina, Haptoglobina e Alfa 1 Glicoproteína Ácida bem como o Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN) nesta espécie, obtendo portanto uma primeira descrição destes marcadores prognósticos. Foram coletados 1,5 ml de sangue por acesso jugular de oito exemplares de Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) provenientes do acervo do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Selvagens (LAPAS) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia para exames de rotina. As amostras foram coletadas através da veia jugular após contenção física dos animais e tricotomia da região. Após análise estatística, os valores encontrados foram: albumina: entre 2,7 e 3,0 g/dl, alfa 1 glicoproteína ácida: entre 0,19 e 0,21 g/l, proteína C reativa: entre 1,7 e 2,2, pré-albumina: entre 30 e 35 mg/l e haptoglobina: entre 0,078 e 0,156 e IPIN $\leq 0,006$ sendo considerado normal e valores $\geq 0,006$ considerados altos. Esta primeira descrição servirá como base para estudos utilizando animais com doenças específicas e, após as análises, comparadas com os valores encontrados neste trabalho verificando se o comportamento segue a semelhança de cães domésticos.

PALAVRAS-CHAVE

Inflamação, animais selvagens, proteínas, fase aguda, proteína C reativa, haptoglobina, albumina, ceruloplasmina, pré-albumina

ABSTRACT

The dog-eating fox (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766) is a medium sized canid widely distributed in South America and occurs in almost all of Brazil. Among the main threats to their conservation are the roadkill mainly caused by habitat loss. The shortage of laboratory bush dogs data affect the veterinary medical care hindering the application of appropriate therapies. This study aimed to evaluate the levels of C-reactive protein, albumin, pre-albumin, ceruloplasmin, haptoglobin and Afla 1 acid glycoprotein and the Prognostic Index Inflammatory Nutritional (IPIN) in this species, thus obtaining a first description of these prognostic markers. They collected 1.5 ml of blood by jugular access 8 of Mato Dogs copies (thous thous) from the Laboratory of collection of Teaching and Research in Wildlife (limpets), Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Uberlândia for exams routine. The samples were collected via the jugular vein after physical restraint of animals and trichotomy of the region. After statistical analysis, the values were: albumin: between 2.7 and 3.0 g / dl, alpha 1-acid glycoprotein: between 0.19 and 0.21 g / l, C-reactive protein: between 1.7 and 2 2, prealbumin between 30 and 35 mg / l haptoglobin: between 0.078 and 0.156 and IPIN ≤ 0.006 being considered normal and values ≥ 0.006 considered high. This press description will serve as a basis for studies where animals may be used with specific diseases and, after analysis, compared with the values found in this study and verified the behavior follows the likeness of domestic dogs.

KEYWORD

Inflammation, wildlife, proteins, acute phase.

1. INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766) (FIGURA 1) é um canídeo de médio porte com distribuição ampla na América do Sul e que ocorre em quase todo o Brasil (ROCHA *et al.*, 2004) (FIGURA 2).



Figura 1 – Exemplar de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) - Fonte: <http://www.icmbio.gov.br/corredordasoncas/pt/fotos-e-videos/fotos/20-naturalidade/detail/151-cachorro-do-mato.html?tmpl=component>

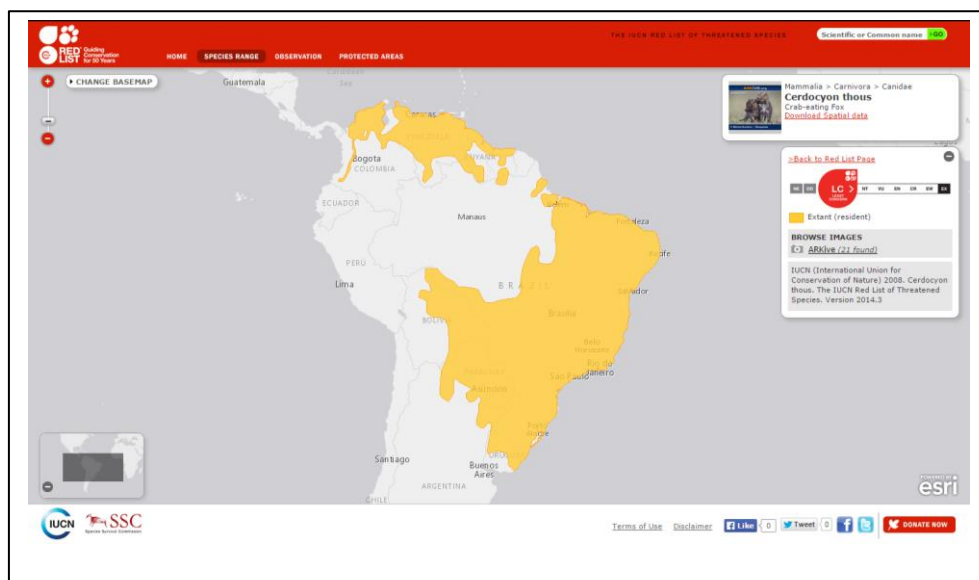


Figura 2 – Distribuição espacial de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). Fonte: União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais

Tem dieta generalista e oportunista composta por pequenos mamíferos, frutas, répteis, aves e insetos (JUAREZ & MARINHO-FILHO, 2002). Esse tipo de alimentação permite que os cachorro-do-mato sobrevivam em áreas degradadas e alteradas pelo homem onde atuam como importantes dispersores de sementes, contribuindo para a preservação desses ambientes. Além disso, esses animais são fundamentais controladores da população de pequenos roedores e insetos em áreas de cultura agrícola. Na ausência desses predadores, suas presas naturais tendem a se multiplicar exponencialmente, podendo trazer sérios prejuízos à agricultura e consideráveis perdas financeiras (ROCHA *et al.*, 2004).

Apesar de atualmente a espécie não estar ameaçada de extinção, sendo classificada como “*least concern*” (menor preocupação) pela IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais) e não constante no Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção do Ministério do Meio Ambiente (Fundação Biodiversitas, 2008) os cachorro-do-mato sofrem redução populacional (COURTENAY & MAFFEI, 2008).

Rossi Júnior *et al.* (2013) relatam que os impactos sobre a população desta espécie devido aos óbitos por atropelamento, ainda não são totalmente conhecidos. As principais ameaças à sua conservação são a ocorrência de doenças infecciosas de cães domésticos e atropelamentos causados principalmente pela perda de habitat (COURTENAY & MAFFEI, 2008; TURCI & BERNARDE, 2009). Por esses motivos, é cada vez mais comum o aparecimento desses animais em centros de reabilitação e hospitais veterinários.

A escassez de dados laboratoriais de cachorro-do-mato disponíveis na literatura prejudica o atendimento médico veterinário desses animais, dificultando a aplicação de terapias adequadas e, conseqüentemente, a recuperação e soltura desses animais (LORENZÃO *et al.*, 2012). É

fundamental, portanto, conhecer os parâmetros fisiológicos de indicadores do estado clínico da espécie, para que o tratamento proposto seja eficiente. Entre estes parâmetros encontram-se as proteínas de fase aguda (PFAs).

As PFAs são consideradas indicadores mais confiáveis da resposta sistêmica frente aos processos inflamatórios/infecciosos, quando comparadas a outros achados como febre, elevação da Velocidade de Hemossedimentação (VHS) e presença de leucocitose associada à neutrofilia (BONAGURA & TWEDT, 2009).

A resposta de fase aguda é a reação que ocorre no animal como resposta a distúrbios da homeostasia causados por infecção, dano tecidual, crescimento neoplásico ou desordens imunológicas (KUSHNER *et al*, 1981).

As principais funções desta resposta sistêmica são:

- Proporcionar energia e substratos para a defesa frente patógenos invasores;
- Evitar a transferência de metabólitos necessários para os patógenos;
- Limitar o dano causado pelos patógenos e/ou eliminar o tecido danificado ou infectado e restaurar o mesmo.

Durante o desenvolvimento da resposta de fase aguda, são liberadas citocinas e outros mediadores que desencadeiam, entre outros efeitos, a variação das concentrações de certas proteínas presentes no plasma chamadas de proteínas de fase aguda.

Na medicina humana e cada vez mais na medicina veterinária, a monitorização das concentrações plasmáticas destas proteínas proporciona uma valiosa informação em diversas situações patológicas que cursam com inflamação, podendo ser utilizada não somente para o diagnóstico como também para monitorar a evolução da enfermidade e avaliar a resposta aos tratamentos aplicados para o restabelecimento da homeostasia corporal (CERÓN *et al*, 2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de Proteína C Reativa, Albumina, Pré-albumina, Ceruloplasmina, Haptoglobina e Afla 1 Glicoproteína

Ácida bem como o Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN) em cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) submetidos a contenção física, obtendo portanto uma primeira descrição que poderão auxiliar no prognóstico de tratamento de animais em cativeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O cachorro-do-mato - *Cerdocyon thous* (LINNAEUS, 1766) é uma espécie de canídeo, ocorrendo em quase todo o Brasil, excetuando-se em partes da Amazônia (WILSON & REEDER 1993). Também é encontrado tanto em áreas de floresta como em áreas de campo (LANGGUTH 1975, BERTA 1982, NOWAK 1999). Seu hábito é preferencialmente noturno, tem seu deslocamento aos pares ou solitário, bordas de mata, por trilhas e estradas procurando alimentos (BRADY 1979, BERTA 1982, PERACCHI *et al.* 2002) (FIGURA 3).



Figura 3 – cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*)

Fonte: <http://www.procarnivoros.org.br/2009/animais1.asp?cod=21>

Esta espécie foi o primeiro canídeo sulamericano descrito na literatura (BISBAL & OJASTI, 1980). A estrutura social desta espécie se caracteriza por uma composição que pode ser de dois a cinco indivíduos que buscam alimentação a uma distância de aproximadamente 100 metros entre si, mas normalmente não existe colaboração durante as caçadas (BRADY, 1979;

MACDONALD & COURTENAY, 1996). Ainda que Montgomery & Lubin (1978) citam que aos pares, *C. thous* podem apanhar alimentos maiores, tais como tartarugas e iguanas, de forma geral, estes são animais generalistas, podendo variar a sua dieta de acordo com a época do ano e a região habitada, isso permite a este canídeo uma ampla distribuição geográfica, indo do norte da Venezuela até a Argentina e o Uruguai (EMMONS & FEER, 1997).

Estes animais frequentemente são vítimas de acidentes automobilísticos na tentativa de atravessarem estradas (FIGURA 4) que cortam seu habitat necessitando de atendimento médico veterinário e, em alguns casos, internação em terapia intensiva devido à condição crítica.



Figura 4 – cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) atropelado no cerrado do Brasil - Fonte: <http://www.soscerrado.com>

Os achados clínicos e os resultados dos exames laboratoriais no momento da admissão do paciente crítico refletem os eventos fisiológicos mais recentes. Os acontecimentos nas horas seguintes à admissão geralmente são a sequência daqueles eventos. Baseado nisso, as alterações destes parâmetros no momento da admissão, bem como na evolução dos pacientes na terapia intensiva tem sido utilizados para estabelecer a probabilidade do risco de óbito (KOLISKI *et al.* 2005).

Nos últimos vinte anos, observou-se grande avanço no conhecimento médico referente ao atendimento de pacientes criticamente

doentes (medicina intensiva), com modificações significativas na evolução e prognóstico desses pacientes. Alguns estudos incluem redução nos índices de mortalidade por doenças específicas, alterações no tempo de permanência e mortalidade e em outras características das unidades de tratamento intensivo (UTI).

2.1. Características gerais da inflamação

Kumar *et al.* (2005) descrevem a inflamação como uma reação complexa a vários agentes nocivos, como os micro-organismos e células danificadas, geralmente necróticas, que consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos e reações sistêmicas.

Esta resposta está intimamente ligada ao processo de reparo, onde a inflamação destrói, dilui ou isola o agente agressor e desencadeia uma sequência de eventos na tentativa de cura ou reconstituição do tecido lesado (SANTOS & ALESSI. 2011).

A resposta inflamatória é composta por dois componentes principais: reação vascular e celular podendo ser aguda ou crônica, onde a primeira se inicia rapidamente e tem duração relativamente curta, e a segunda tem uma duração maior (KUMAR *et al.* 2005, SANTOS & ALESSI. 2011).

2.1.1. Resposta de fase aguda

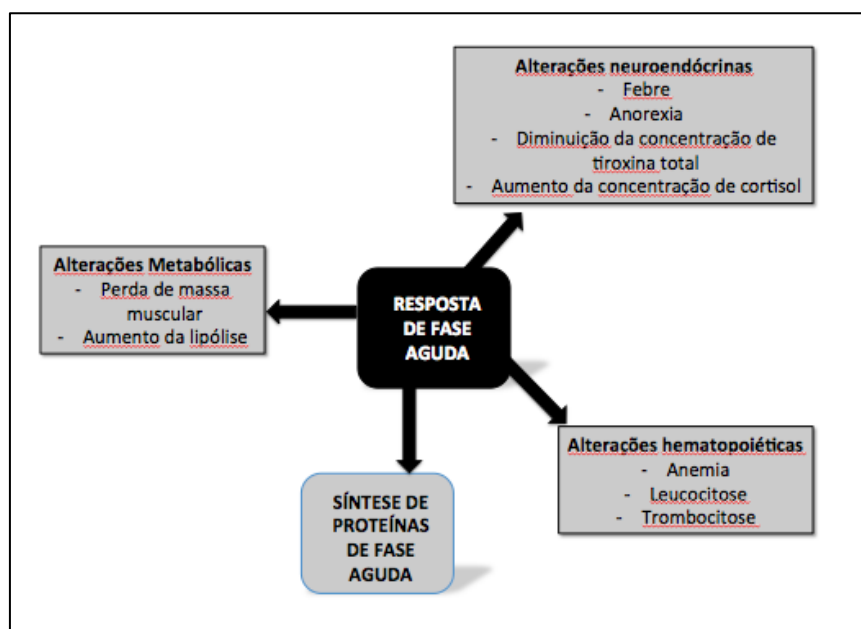
O termo resposta de fase aguda refere-se a todas as mudanças que ocorrem no organismo em um breve espaço de tempo na tentativa de restaurar a homeostase (MARTÍNEZ-SUBIELA *et al.*, 2001). Portanto, compreende a resposta bioquímica e fisiológica não específica de animais à maioria das formas de danos teciduais como infecção, inflamação e neoplasia maligna (PEPYS & HIRSCHFIELD, 2003). Após a injúria tecidual, trauma ou infecção uma série de reações complexas ocorrem no organismo a fim de prevenir o aumento do dano, isolar e destruir o possível agente etiológico (BAUMANN & GAULDIE, 1994).

Pepys e Baltz (1983) relataram que são vários os estímulos que induzem a

reação de fase aguda (RFA), mas todos possuem um denominador comum: a produção de dano ou morte celular ou soro obtido de pacientes que estavam agudamente doentes com infecções e que tinham proteína C-reativa (PCR) na sua composição (PEPYS & BALTZ, 1983).

Um processo sequencial é iniciado no local da infecção ou trauma, levando a liberação de mediadores solúveis que mobilizam a resposta metabólica de todo o organismo. Os macrófagos e monócitos são as células comumente associadas com o início desse processo. As células ativadas liberam mediadores, como a IL-1 e TNF que atuam localmente e à distância. Estas substâncias são responsáveis pela liberação secundária das demais citocinas envolvidas na RFA (BAUMANN & GAULDIE, 1994). As citocinas interagem com receptores de várias células alvo resultando em ativação do eixo adrenal-hipófise-hipotálamo, redução de hormônios de crescimento e alterações clínicas caracterizadas por febre, anorexia, balanço negativo de nitrogênio e catabolismo muscular (FIGURA 5) (STREETZ, *et al.*, 2001).

Figura 5 – Alterações produzidas durante a resposta de fase aguda.



Adaptado de Martínez-Subiela *et al.* (2001).

Além disso, ocorre uma série de mudanças determinadas

laboratorialmente, tais como aumento do número de leucócitos, aumento nos valores do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e glicocorticóides, ativação dos sistemas complemento e hemostático, diminuição dos níveis séricos de cálcio, zinco, ferro-tocoferol e uma alteração na concentração de várias proteínas plasmáticas, as PFAs, principalmente devido a mudanças no metabolismo hepático (Pepys e Baltz, 1983). Quando os receptores celulares são ativados repetitivamente, a RFA pode tornar-se crônica (GRUYS *et al.*, 2005).

2.1.1.1. Citocinas e a resposta de fase aguda

As citocinas são proteínas secretadas pelas células do sistema imune sendo produzidas em resposta a microorganismos e outros antígenos (FIGURA 6). Diferentes citocinas estimulam respostas diversas das células envolvidas na imunidade e inflamação (ABBAS *et al.* 1997).

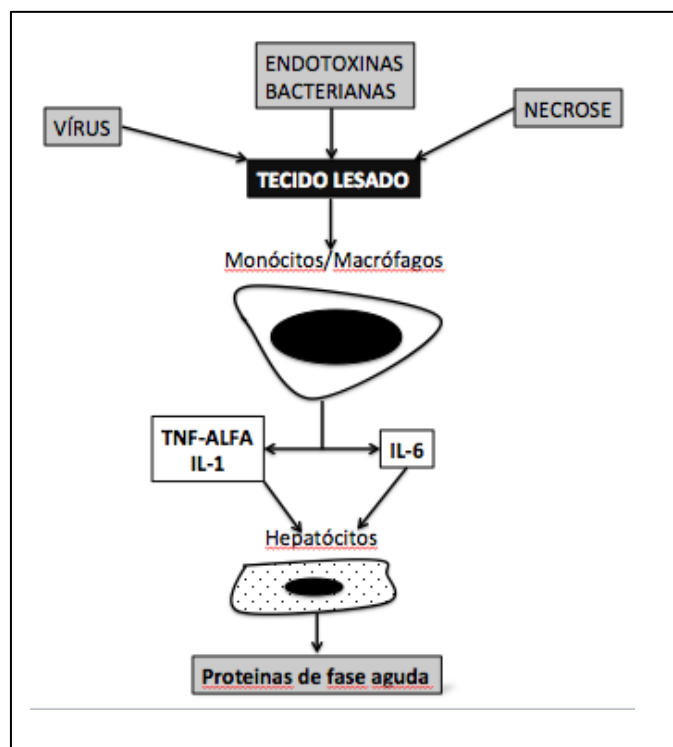


Figura 6 – Desencadeamento da resposta de fase aguda com diferentes tipos de estimulação hepática. Adaptado de Martínez-Subiela *et al.* (2001)

Pelo menos quinze diferentes mediadores peptídicos (interleucinas) de baixo peso molecular são secretados pela ativação de leucócitos e outras células. São coletivamente chamadas de citocinas e estão envolvidas no desencadeamento da RFA (GRUYS *et al.*, 2005).

Existem dois tipos de interferentes na concentração das citocinas: fatores biológicos, que envolvem todas as flutuações causadas por condições naturais, como idade, variação sazonal e diária, e fatores pré-analíticos, tais como coleta da amostra e estocagem inadequadas (KENIS *et al.*, 2002).

Três principais grupos de citocinas podem ser determinados: citocinas que primariamente atuam tanto como fatores de crescimento positivo ou negativo para uma variedade de células (IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12 e fator de estimulação de colônia granulócito-macrófago); citocinas com propriedades pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL6, Interferon-8 e proteína 1 inibidora de macrófago) e fatores com atividade anti-inflamatória (antagonistas do receptor de IL-1, receptores solúveis de IL-1, proteína ligante de TNF-1) (GRUYS *et al.*, 2005).

As citocinas pró-inflamatórias promovem a indução de febre, catabolismo muscular e ativação de precursores de leucócitos na medula óssea assim como fibroblastos e macrófagos. Estas citocinas são responsáveis por uma ampla gama de efeitos antagonistas e sinérgicos que influenciam a resposta imune específica. Fator de necrose tumoral alfa, IL1 beta e Interferon gama são cruciais para indução de outras citocinas como as IL-6 e 8 e agentes como o fator de ativação plaquetária, prostaglandinas, leucotrienos e óxido nítrico (GRUYS *et al.*, 2005).

Na resposta de fase aguda hepática, TNF alfa 1 e IL-6 ativam os receptores dos hepatócitos iniciando a síntese de proteínas de fase aguda sendo a IL-6 considerado o maior mediador desta ativação hepática. A IL-1 estimula um aumento no influxo de aminoácidos para todo o organismo e ativa o sistema adrenal-hipófise-hipotálamo. Tem sido demonstrado que as células de Kupffer desempenham um importante papel na resposta inflamatória aguda. A IL-6

deprime a produção de IL-1 e TNF alfa 1, portanto atenua a reação em cascata. A regulação da produção hepática das proteínas de fase aguda é obtida após rápida remoção das citocinas circulantes, liberação de IL-10 pelas células de Kupffer que resulta na supressão da produção local de IL-6. Parte das PFAs hepáticas são suprimidas pela IL-1 e IL-4 e algumas PFAs podem modular a produção de citocinas pelos monócitos (GRUYS *et al.*, 2005).

Portanto, os níveis séricos de citocinas são um retrato da resposta das proteínas de fase aguda (SORENSEN *et. al.*, 2006). Entretanto, apresentam meia vida curta, não sendo muito úteis para a maioria dos diagnósticos ao contrário das proteínas de fase aguda (GRUYS *et. al.*, 2005).

Algumas horas após o início da lesão tecidual a síntese hepática das proteínas é drasticamente alterada resultando em aumento de algumas proteínas sanguíneas (PFAs positivas) e diminuição de outras (PFAs negativas). Dentre as PFAs negativas temos a albumina, proteína ligante de retinol, globulina e transferrina. As PFAs positivas são principalmente a PCR, a soro amilóide A (SAA) e a haptoglobina (Hp) que são liberadas pelos hepatócitos após a estimulação pelas citocinas (GRUYS *et al.*, 2005).

As PFAs contribuem para a defesa do organismo neutralizando diretamente agentes inflamatórios, minimizando a extensão do dano tecidual, assim como participam no reparo e regeneração teciduais. Induzem, ainda, a um rápido aumento na concentração plasmática de muitos componentes do sistema complemento, estimulam a quimiotaxia de neutrófilos, macrófagos e proteínas plasmáticas para o local da lesão, que participam da morte de agentes infecciosos, da formação de debris celulares e reparo do tecido lesionado. Componentes da hemostasia, tal como o Fibrinogênio, desempenham papel essencial na cicatrização. O aumento plasmático de proteínas ligantes de metais, como a lactoferrina, previne a perda de ferro durante a infecção ou injúria e também minimiza os níveis de ferro heme disponível para o crescimento da bactéria. A concentração plasmática das PFAs é variável, dependendo da quantidade necessária de que cada proteína

durante determinado estímulo agressivo (STEEL & WHITEHEAD, 1994).

2.1.1.1.1. Classificação das proteínas de fase aguda

Segundo Martínez-Subiela *et al.* (2001) e Jain *et al.* (2011), as PFAs são produzidas como resposta a um estímulo agressor ao organismo e podem ser classificadas quanto ao seu modo de ação, síntese ou pela sua concentração plasmática.

2.1.1.1.2. Segundo o modo de ação

O modo de ação das PFAs podem ser pelos seguintes mecanismos (JAIN *et al.*, 2011):

- inibidores da protease, por exemplo, alfa-1 antitripsina e alfa-1 antiquimiotripsina;
- proteínas de coagulação, por exemplo, fibrinogênio e protrombina.
- proteínas do sistema complemento, por exemplo, C2, C3, C4, C5, entre outras;
- proteínas de transporte, por exemplo, Hp e CP;
- outras proteínas, por exemplo, PCR, SAA e GPA.

2.1.1.1.3. Segundo sua síntese

Baseado no mecanismo de síntese, Martínez-Subiela *et al.* (2001) e Jain *et al.* (2011) relatam que as PFAs são produzidas com base na Resposta de Fase Aguda (RFA), que promove estímulo na sua produção hepática pelos hepatócitos.

2.1.1.1.4. Segundo sua concentração plasmática

Em sua classificação pela concentração no plasma sanguíneo, elas podem ser consideradas como proteínas de fase aguda negativas (PFA_n) e positivas (PFA_p). As PFA_n são aquelas que durante o processo inflamatório, sua síntese é diminuída e, como exemplo temos a albumina, a transferrina, a pré-albumina e a proteína de ligação do retinol (JAIN *et al.*, 2011).

Já as PFA_p apresentam aumento na concentração sérica durante o processo inflamatório e, como exemplo de representantes desta classe, podemos citar a proteína C reativa, a proteína ligadora de manose, a alfa-1 antitripsina, a alfa-1 antitripsina, a alfa-2 macroglobulina, o fibrinogênio, a protrombina, o fator VIII, o fator de Von Willebrand, o plasminogênio, os fatores do complemento, a ferritina, a amilóide A sérica, a ceruloplasmina, a haptoglobina e a alfa-1 glicoproteína ácida (CERÓN *et al.*, 2005, JAIN *et al.*, 2011).

Como funções das proteínas de fase aguda positivas estão a destruição/inibição do crescimento de bacteriano, controle do estado febril com consequências metabólicas e anoréxicas. Também, são responsáveis pelo *feedback* negativo da resposta inflamatória (CERÓN *et al.*, 2005).

2.1.1.2. Principais Proteínas de Fase Aguda descritas nos cães

Como principais proteínas de fase aguda descritas em cães domésticos, com características e funções próprias estão, a albumina, transtirretina, transferrina, a proteína C reativa, o fibrinogênio, a haptoglobina (Hp), a alfa 1 glicoproteína ácida, amilóide A sérica e ceruloplasmina.

2.1.1.2.1. Proteína C-reativa

A Proteína C reativa é uma proteína de fase aguda da família das pentraxinas, presente no soro de muitos vertebrados (PARRA *et al.*, 2006a). Descoberta por Tillet & Francis em 1930 em pacientes infectados por *Streptococcus pneumoniae* devido à sua capacidade de se ligar ao

polissacarídeo C pneumocócico. É produzida somente pelos hepatócitos em resposta ao estímulo da IL-6 no local da agressão. Sua síntese inicia rapidamente após o estímulo e possui meia vida plasmática curta com cerca de 19 horas. Desta forma, sua concentração circulante mostra a intensidade do processo agressor que provocou sua produção (PEPYS & HIRSCHFIEL, 2003).

A proteína C reativa é utilizada no diagnóstico clínico e prognóstico de várias doenças em humanos. Se liga a fosfocolina e reconhece antígenos e células lesadas que tenham fosfolipídios em sua composição (GABAY & KUSHNER, 1999). Também, ativa o sistema complemento quando ligada à fração C1q. Ainda pode se ligar a receptores específicos de células fagocíticas (Fc RI e Fc leucócitos) contribuindo com a opsonização e produção de citocinas inflamatórias (MARNELL *et al.*, 2005). *In vitro*, podem ativar neutrófilos, inibir a agregação plaquetária, iniciar a degranulação de plaquetas, otimizar a atividade das células *natural killer* (NK) e facilitar as reações citotóxicas celulares contra as células infectadas. (JAYE & WAITES, 1997).

Diversas espécies apresentam a proteína C reativa no soro, porém, com algumas peculiaridades nas diferentes espécies animais. Segundo Maudsley & Pepys (1987), podem ocorrer reações cruzadas entre as pentraxinas das diferentes espécies. São poucos os relatos sobre proteína C reativa em felinos, mas sabe-se que esta proteína em felinos sofre pouca elevação durante a reação inflamatória aguda (KAJIKAWA *et al.*, 1999). Em eqüinos a proteína C reativa não apresenta elevação tão evidente como o fibrinogênio, que é mais comumente utilizado para o diagnóstico do processo inflamatório nessa espécie (HULTÉN *et al.*, 1999). Nos bovinos a proteína C reativa esta associada a lactação e não ao processo inflamatório agudo (CHERYK *et al.*, 1996, LEE *et al.*, 2003). Em cães, a proteína C reativa é uma das principais proteínas de fase aguda (ECKERSALL *et al.*, 1991) com aumento rápido frente à resposta inflamatória (PARRA *et al.*, 2006a). Em suínos, os relatos são da análise de sua concentração sérica (PARRA *et al.*, 2006b), na saliva (GUTIÉRREZ *et al.*, 2008a) em macerado de carne (GUTIÉRREZ *et al.*, 2008b) para o diagnóstico e monitoramento de processos

inflamatórios/infecciosos.

A proteína C reativa em cães foi documentada por Caspi & colaboradores em 1984. Tem peso molecular de 100 kD e consiste de cinco subunidades de 20 kD (CERÓN *et al.*, 2005); entretanto, alguns autores relataram que a proteína C reativa canina é composta por duas subunidades de 28 kD e três subunidades de 24 kD (CASPI *et al.*, 1984, ONISHI *et al.*, 1994). Por meio de microscopia eletrônica foi observado que esta proteína em cães é similar à humana, sendo a principal diferença o fato de duas das cinco subunidades no cão serem glicosiladas, o que poderia explicar a dificuldade para utilizar anticorpos contra a proteína humana para determinação da canina (CERÓN *et al.*, 2005). A concentração sérica aumenta em 24 horas após a lesão tecidual (HAYASHI *et al.*, 2001), podendo atingir índices mais de 100 vezes o valor referência (PARRA *et al.*, 2005a).

A concentração de proteína C reativa tem sido utilizada para avaliar a presença de processos inflamatórios agudos, no prognóstico e monitoramento de patologias e ainda tem sido descritos aumentos após procedimentos cirúrgicos, infecções diversas como em tripanossomíase, erliquiose, leishmania, pneumonias, neoplasias e falência de órgãos (OTABE *et al.*, 1998; HAYASHI *et al.*, 2001; YAMAMOTO *et al.*, 1993; RIKIHISA *et al.*, 1994; MARTÍNEZ-SUBIELA *et al.*, 2001; TECLES *et al.*, 2005)

Os valores de referência em cães sadios possuem descrições variadas. Existem relatos em que valores menores que 1 g/mL devem ser interpretados com cautela, pois podem ser influenciados pelas condições analíticas (YAMAMOTO *et al.*, 1992, YAMASHITA *et al.*, 1994, OTABE *et al.*, 1998, MARTÍNEZ-SUBIELA *et al.*, 2001). Portanto, recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus valores referenciais. Vários fatores biológicos podem influenciar os valores de PCR canina, tais como idade (CERÓN *et al.*, 2005) e prenhez (KURIBAYASHI *et al.*, 2003, CERÓN *et al.*, 2005). Existem relatos na literatura da variação da atividade de PCR nas diferentes idades em cães, demonstrando que animais de menos de um mês não sofrem elevações

nos valores de PCR, enquanto em cães com três meses sua produção é menor que um animal adulto (HAYASHI *et al.*, 2001). Observa-se variação individual entre os cães que vivem em ambientes restritos e adequadamente higienizados e aqueles de vida livre, possivelmente devido à exposição a fatores ambientais que estimulem o sistema imune (CERÓN *et al.*, 2005).

Diversos métodos podem ser utilizados para a determinação de PCR em cães (ECKERSALL *et al.*, 1991, YAMAMOTO *et al.*, 1992). Na medicina humana os métodos para determinação de PCR foram inicialmente desenvolvidos baseados na sua habilidade de precipitar a fração C do polissacarídeo. Após sua caracterização bioquímica em 1978 e a descrição de anticorpos monoclonais específicos, vários métodos imunológicos quantitativos foram disponibilizados (JAYE & WAITES, 1997). Assim como na medicina humana, a PCR canina foi inicialmente isolada utilizando sua capacidade de se ligar ao polissacarídeo C pneumocócico (FUJISE *et al.*, 1992). A PCR canina pode ser estimada por: eletroimunoensaio (CASPI *et al.*, 1987), imunodifusão (CONNER *et al.*, 1988), ensaio imunoenzimático (ELISA) (YAMAMOTO *et al.*, 1993, KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2003a), ensaio imunoturbidométrico (ECKERSALL *et al.*, 1991, KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2003b, PARRA *et al.*, 2005a), aglutinação do látex por capilaridade reversa passiva (TAGATA *et al.*, 1996), ensaio rápido semi-quantitativo baseado em imunocromatografia (McGROTTY *et al.*, 2004) e ensaio imunofluorométrico em tempo real (TR-IFMA) (PARRA *et al.*, 2006a).

Não há dados suficientes sobre a sensibilidade dos *kits* comerciais disponíveis. Embora anticorpos espécie-específicos sejam recomendados, ensaios que utilizam anticorpos anti-PCR de diferentes espécies (principalmente humano) têm sido descritos como sendo uma alternativa possível, principalmente por apresentarem menor custo. Entretanto, tais ensaios devem ser validados e padronizados (CERÓN *et al.*, 2005).

Em humanos, foi descrita a determinação da PCR por método automatizado, acoplado ao contador de células sanguíneas, utilizando a

mesma amostra de sangue colhida para a realização do hemograma. Além de apresentar baixo custo o resultado é obtido em poucos minutos, o que é especialmente interessante em situações emergenciais (GROTTO *et al.*, 2002).

A validação do PCR automatizado proporcionaria o diagnóstico precoce e monitoramento de processos inflamatórios agudos em cães. Além disso, ele utiliza pequena quantidade de amostra para análise, ponto favorável frente à dificuldade de coleta em muitos animais que não permitem adequada contenção.

2.1.1.2.2. Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, sendo importante reserva protéica, e também transportador de aminoácidos, cálcio, hormônios e bilirrubina, além de participar da regulação do pH sanguíneo como ânion. A hiperalbuminemia ocorre exclusivamente em condições de desidratação. Já a hipoalbuminemia pode ocorrer em várias situações originadas de dano hepático crônico, deficiência alimentar de fontes protéicas, parasitismos, doença renal, síndrome da má absorção intestinal, hemorragias, enteropatia com perda de proteína e queimaduras graves. Ainda, tal situação decorre do catabolismo aumentado da albumina como consequência de deficiência energética, que estimula a mobilização de reservas de aminoácidos para entrarem na via da gliconeogênese (THRALL, 2007).

A albumina é uma proteína negativa de fase aguda, que tende a diminuir sua concentração sérica diante de um processo inflamatório. Isto ocorre devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias (PEREIRA & BURINI, 1992) e ao aumento da permeabilidade vascular, com consequente saída para os espaços extravasculares (CORRÊA & BURINI, 2000).

Em humanos apresentando sepse, o extravasamento da albumina para o espaço extravascular pode ter um aumento que chega a 300%, sendo que,

em pacientes pós-cirúrgicos, o escape ocorre em sete horas após o processo e chega a atingir 100%. Assim, a taxa de extravasamento da albumina é cerca de 10 vezes superior à sua taxa de síntese (FLECK *et al.*, 1985).

Em estudo onde se avaliou alterações no exame de proteínas séricas em cães com Leishmaniose Visceral, foi observado incrementos significativos na concentração de proteínas totais e de globulinas, e diminuição sérica de albumina (NOGUEIRA *et al.*, 2002).

2.1.1.2.3. Pré-albumina ou transtirretina (TTR)

A pré-albumina, também chamada de transtirretina, é uma proteína não glicosilada que tem como função o transporte dos hormônios tireoidianos e fixação de retinol. Sua meia vida plasmática é de dois a três dias e sua concentração é influenciada por alterações nutricionais e fatores ligados à resposta aguda do organismo a danos teciduais (JOHNSON, 2007).

A pré-albumina é uma proteína de fase aguda negativa, que tem suas concentrações sanguíneas diminuídas diante de um processo inflamatório. Isto ocorre devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias e ao aumento da permeabilidade vascular durante a inflamação, sendo a esta a principal causa de sua redução (MALAVÉ *et al.*, 1998; CALAMITA & BURINI, 1993).

Segundo Fuhrman (2004), em humanos, os níveis de pré-albumina plasmática diminuem na infância, na senilidade, em casos de inflamação, trauma, desnutrição grave, doença hepática, processos inflamatórios da tireóide, hemorragia, doenças renais agudas, alterações hormonais, ascite e hemo-diluição. O aumento da sua concentração ocorre com o uso de corticosteróides, antiinflamatórios não esteroidais, fator de crescimento da insulina e na insuficiência renal crônica.

As principais proteínas marcadoras de estado nutricional são a

albumina, transtiretina (pré-albumina), transferrina e proteína ligadora de retinol.

A albumina possui uma meia vida longa, sendo um parâmetro pouco eficiente para a monitoração nutricional. Já a transtiretina é a proteína mais conveniente para a avaliação de terapias nutricionais, porém as alterações em sua concentração não são exclusivas das modificações do *status* nutricional, sendo também influenciada por doenças hepáticas e processos inflamatórios (CYNOBER, 2009).

Cynober (2009) relata que para estabelecer a possível origem das alterações na concentração da pré-albumina em humanos é preciso analisar outras proteínas de fase aguda, o que pode definir determinadas situações clínicas conforme veremos mais a frente no trabalho.

2.1.1.2.4. Haptoglobina (Hp)

É uma glicoproteína, formada por duas subunidades alfa e beta que se estabilizam ao ligarem-se especificamente à hemoglobina, que será direcionado da circulação para o sistema mononuclear fagocitário sendo reaproveitado o íon ferro pelo processo da hemocaterese e na defesa contra patógenos (CORAZZA *et al.*, 1997).

Em cães, sua elevação acontece devido a processos inflamatórios, corticoterapia (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2011), tripanossomíases, leishmaniose, traumas e síndrome de Cushing (CERÓN *et al.*, 2005). É uma das principais proteínas de fase aguda em todas as espécies, principalmente em bovinos, onde é descrita como a principal proteína de fase aguda.

O aumento da concentração da haptoglobina é detectada 24 horas após a lesão atingindo seu pico em 4 dias. Algumas de suas funções são: ligante de hemoglobina, agente bacteriostático e fator estimulador de angiogênese, atuando também no metabolismo de lipídios e possuindo um importante efeito

imunomodulador. (CERÓN *et al.*, 2005).

Kogika *et al.* (2003) descreveu a haptoglobina como marcador de prognóstico em cães com gastrenterite hemorrágica, sugerindo a gravidade do processo inflamatório ocasionado pelo parvovírus canino.

Quando comparados a cadelas híginas, Planellas *et al.* (2009) relatam que cadelas com neoplasias mamárias apresentaram aumentos significativos de haptoglobina e a proteína C reativa.

Martínez-Subiela, *et al.* (2001), relatam que a análise de haptoglobina pode ser útil e deve ser considerada quando existem suspeitas da presença de uma anemia hemolítica infecciosa, autoimune ou tóxica. E que a presença de um baixo nível de haptoglobina é, frequentemente, indicativo de hemólise intravascular recente, e que a ausência total dela pode estar associada com uma lesão hepática grave.

2.1.1.2.5. Alfa-1 glicoproteína ácida

CERÓN *et al.* (2005) afirmam que a alfa 1 glicoproteína ácida possui diversas funções como: agente antiinflamatório e imunomoduladoras, aumentando a secreção da IL-1. Sua elevação sérica normalmente se inicia cinco dias após sua ativação, atingindo o pico em sete dias.

A alfa 1 glicoproteína ácida tem propriedades imunomoduladoras, de reparo e de cicatrização; podendo se ligar a um grande número de drogas e agentes inespecíficos, já sendo descrito o aumento de sua concentração em doenças como: babesiose, erliquiose, parvovirose e neoplasias como linfoma, sarcoma e carcinoma (CERÓN *et al.* 2005).

Hagman (2011) relatam que em cadelas com piometra, as concentrações de alfa 1 glicoproteína ácida variam de acordo com o agravamento do problema e com o tempo de internação.

Comparações entre dois grupos de cães (animais hígidos X gastroenterite hemorrágica por parvovírus) demonstraram que as concentrações da alfa 1 glicoproteína ácida foram maiores em relação à ceruloplasmina e haptoglobina, sugerindo a alfa 1 glicoproteína ácida é importante na avaliação do processo inflamatório agudo ocasionado pelo parvovírus (KOGIKA *et al.*, 2003).

Em investigação clínico-laboratorial, nove cães com meningite arterite responsiva a esteróides apresentaram elevação sérica de alfa 1 glicoproteína ácida antes e durante o tratamento e foi também descrita como importante no acompanhamento do tratamento e detecção de recidiva de casos de meningite (LOWRIE *et al.*, 2009).

2.1.1.2.6. Ceruloplasmina

A ceruloplasmina é uma glicoproteína transportadora do cobre, essencial para a eritropoiese, tem efeito antioxidante nas células com proteção delas dos compostos gerados pela fagocitose de micro-organismos e debris celulares (GRUYS *et al.*, 1994; CERÓN *et al.*, 2005).

Durante a resposta de fase aguda em cães, a elevação de sua concentração é considerada moderada, juntamente com a haptoglobina e alfa 1 glicoproteína ácida. No caso de traumas, os valores da ceruloplasmina se elevam duas a três vezes, alcançando o pico dentro de 24 horas. Segundo Cerón *et al.* (2005), em casos de leishmaniose a elevação ocorre em aproximadamente quatro dias.

Quando avaliada em conjunto com outras proteínas de fase aguda em cães com parvovirose, a ceruloplasmina apresentou aumento menor em sua concentração; porém, em comparação entre valor de referência, sua alteração foi maior quando comparado a outras proteínas. Este resultado apontou a ceruloplasmina como indicador precoce do processo inflamatório em cães (KOGIKA *et al.*, 2003).

Devido a esta proteína representar um papel importante no metabolismo do cobre, pesquisadores investigaram a ceruloplasmina em diversas fases do ciclo estral de cadelas descrevendo valores aumentados na sua concentração no terço inicial da gestação (ULUTAS *et al.*, 2009).

Também foi descrita a elevação de sua concentração sérica na detecção e resposta ao tratamento de cães com leishmaniose, sendo indicada como uma das principais proteínas de fase aguda para avaliar tal enfermidade (MARTINEZ- SUBIELA & CÉRON, 2005).

2.1.1.3. Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN)

O fator nutricional tem grande importância em pacientes humanos e veterinários traumatizados. Diversas formas de avaliar o *status* nutricional tem sido utilizados na medicina humana, entre eles o Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN).

Na medicina humana, tem se utilizado a determinação de proteínas totais séricas como indicador nutricional, e em diminuições drásticas infere-se que a albumina e as globulinas também estão diminuídas.

A albumina sérica, apesar de sofrer alterações por parte de mudanças metabólicas de fase aguda e de variações de volume vascular e intersticial, a sua redução indica um déficit proteico. Entretanto, como tem uma meia vida grande (18 e 21 dias), não se pode considera-la como indicador de reabilitação nutricional.

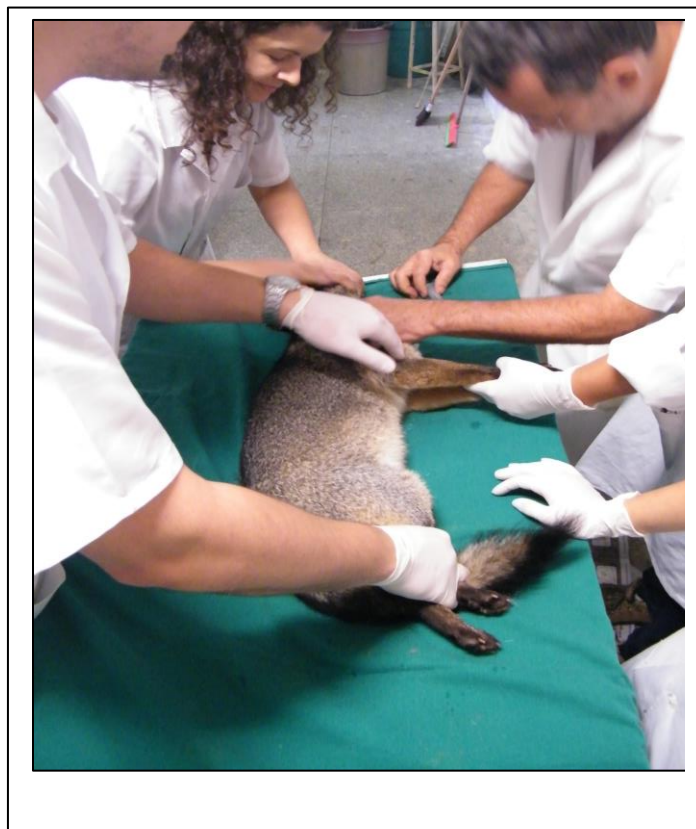
Com a finalidade de ter valores prognósticos nutricionais mais efetivos, foi criado um índice que utiliza proteínas que, quando correlacionadas entre si formam o Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN) proposto por Ingenbleek e Carpentier em 1998.

Este índice utiliza a combinação de duas proteínas positivas – proteína

C reativa e alfa 1 glicoproteína ácida, e duas negativas – albumina e transtirretina (pré-albumina) e permite a avaliação de pacientes em estado de agressão seja por sepse, traumas, estresse, entre outros, mesmo frente a diferentes fatores hormonais, de citocinas ou neuronais que comprometem as vias metabólicas sendo considerado normal pacientes com IPIN ≤ 1 e com níveis altos indesejáveis de IPIN ≥ 1 (CUETO *et al*, 2012; JAIN, *et al*, 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Após aprovação do Comitê de Ética no Uso Animal do Centro de Tecnologia Animal (CTA) nº CTA-OD-007, os animais passaram por contenção física (FIGURA 7) e exame clínico onde foram mensurados frequência cardíaca e respiratória, tempo de preenchimento capilar, auscultação pulmonar, verificação de enfermidades de pele ou cortes e palpação dos linfonodos superficiais. Todos estes parâmetros se mostraram próximos ao do cão doméstico preconizado por Ettinger & Feldman (2004). sendo coletados 1,5 ml de sangue por venopunção da veia jugular utilizando seringa de 3 ml e agulha



25x8, de oito exemplares adultos de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (7 machos e 1 fêmea) provenientes do acervo do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Selvagens (LAPAS) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia para exames de rotina.

Figura 7 – contenção física para colheita de amostra de sangue cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). Arquivo pessoal.

Os oito exemplares, adultos jovens, foram provenientes do acervo da UNESP/Jaboticabal e estavam mantidos em cativeiro há dois anos em recinto individual de 4 m² aproximadamente, com fornecimento de água à vontade e alimentação diária através de ração canina e frutas oferecida pelos funcionários, residentes ou estagiários do setor. A limpeza também era diária e cada animais era liberado em solário durante este momento. Eram submetidos a exames hematológicos e parasitológico de fezes a cada seis meses e fornecido doses de vermífugos a base de praziquantel e pirantel duas vezes ao ano conforme preconizado em bula pelos fabricantes que podiam variar de acordo com a disponibilidade à época. Desta forma, os animais não apresentavam alterações hematológicas nem parasitológicas em seus exames de rotina, tinham comportamento considerado normal para a espécie e estavam acostumado a presença e contenção humana, minimizando o estresse e, apresentando padrões de higidez.

Após a coleta de rotina, uma parcela do sangue foi encaminhada para o Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia destinado a obtenção do hemograma e bioquímico com o objetivo de verificar a sanidade dos exemplares sendo utilizada como referência os dados descritos por NOVAIS *et al.* (2005) para esta espécie. Outra parcela foi subdivida em uma parte de sangue total e outra centrifugada a 1000 rpm por 15 minutos e o soro separado, congelado e encaminhado para o laboratório do São Bernardo Apart Hospital situado em Colatina/Espírito Santo para as análises de Alfa 1 Glicoproteína Ácida (α 1), Proteína C Reativa (PCR), Haptoglobina (Hp), Albumina (Alb) e pré-albumina (TTR). A concentração sérica de PCR foi obtida através do teste turbidométrico ultrassensível com látex aprimorado (Biotécnica® Varginha, Minas Gerais). Este método descrito por Batisti, *et al.* (2013), consiste na aglutinação de partículas de látex recobertas com anticorpo que aglutinam quando entram em contato com a PCR presente na amostra, provando mudanças de absorbância proporcional à quantidade de PCR da amostra. A mudança na absorbância é

detectada e mensurada por analisador de química clínica automatizado (BS200 Mindray®, China).

As proteínas séricas Hp, TTR e α_1 foram realizadas através de eletroforese em matriz gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) com sistema vertical de eletroforese descrito por Battisti, *et al.* (2013).

A albumina foi mensurada através dos métodos de biureto e verde de bromocresol descrito por Alonso *et al.* (2005) e a pré-albumina A dosagem da pré-albumina sérica foi realizada pela técnica de nefelometria (Dade Behring® - Alemanha) descrito por Guerra (2008).

Os resultados foram tabulados e realizada análise descritiva dos atributos utilizando as estatísticas: mínimo, máximo, média, mediana, desvio padrão e coeficiente de variação. Em seguida aplicou-se o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para verificar a suposição que os dados apresentam distribuição próxima da normal para a construção do Intervalo de Confiança. Determinou-se então os limites inferiores e os limites superiores do intervalo de confiança de 95% para a média populacional conforme preconizado por Ayres *et al.*, 2007.

O resultado final foi submetido ao cálculo do Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN) conforme preconizado por Ingenbleek & Carpentier em 1998 pela fórmula:

$$\text{IPIN} = \frac{\text{alfa-1-GA} + \text{PCR}}{\text{Alb} = \text{TTR}}$$

Onde:

Alfa-1-GA = Alfa 1 Glicoproteína ácida

PCR = Proteína C reativa

Alb. = Albumina

TTR = Transtirretina (pré-albumina)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fato dos animais terem acompanhamento diário pelos tratadores que relatam comportamento normal para a espécie, estarem vermifigados e se alimentando de forma rotineira demonstram que eles tinham um padrão de hígidez esperado.

As análises de hemograma e exames bioquímicos demonstraram parâmetros como os relatados por Alonso *et al.* (2005) para cachorro-do-mato, complementam os indicativos clínicos que os oito animais estavam hígidos.

As demais amostras foram analisadas no Laboratório do São Bernardo Apart Hospital na cidade de Colatina/ES e os resultados apresentados na TABELA 1.

Tabela 1 – Resultados das análises realizadas em amostras de oito exemplares de cachorro-do-mato (*Cercopithecus thous*) para albumina, alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, pré albumina e haptoglobina.

ANIMAL	ALBUMINA g/dl	ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA g/l	PROTEÍNA C REATIVA mg/l	PRÉ- ALBUMINA Transtirretina mg/l	HAPTOGLOBINA g/l
Quebrado	3,1	0,23	2,3	32	0,133
Madalena	2,8	0,18	1,8	37	0,058
Euzébio	2,9	0,2	1,6	29	0,105
Marcos	2,5	0,2	2	28	0,112
Geraldo	3,1	0,21	2,2	32	0,19
Thiago	2,7	0,19	1,5	35	0,166
Dionísio	2,9	0,18	2,2	32	0,116
Matheus	2,7	0,2	1,8	36	0,058

Estes dados foram analisados em valores mínimos, máximo, média, mediana, desvio padrão e coeficiente de variação. Após, foi aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para identificação do intervalo de

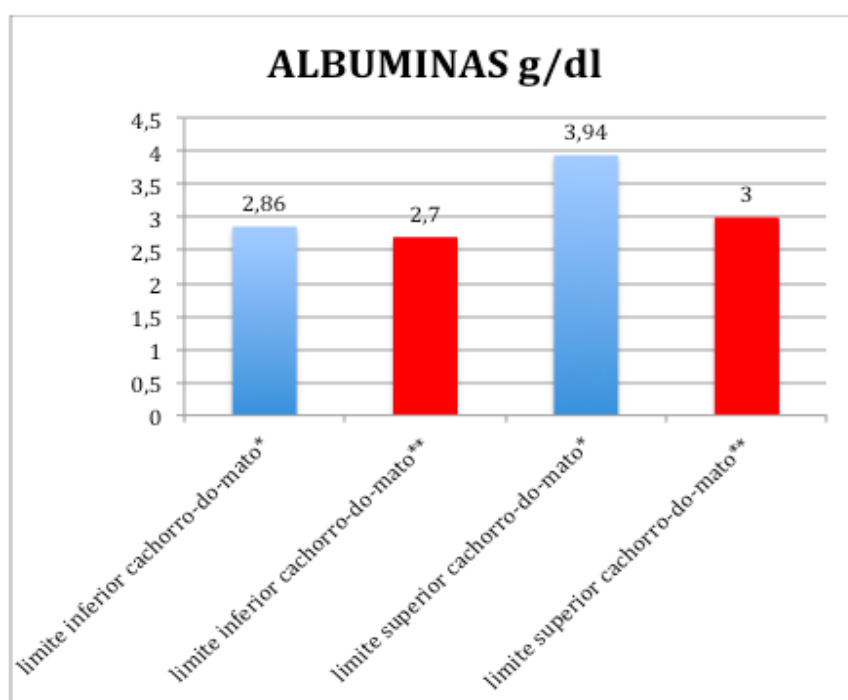
confiança com determinação de valores limites inferiores e superiores conforme apresentado na TABELA 2.

Tabela 2 – Limites inferiores e superiores para albumina, alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, pré albumina e haptoglobina em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) encontrados através do teste de Kolmogorov-Smirnov em intervalo de confiança de 95%.

LIMITES	ALBUMINA g/dl	ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ACIDA g/l	PROTEÍNA C REATIVA mg/l	PRÉ- ALBUMINA Transtirretina mg/l	HAPTOGLOBINA g/l
INFERIOR	2,7	0,19	1,7	30	0,078
SUPERIOR	3,0	0,21	2,2	35	0,156

Novais e colaboradores em 2005, descreveram os valores sanguíneos de referência e investigaram a presença de antígenos eritrocitários caninos em lobo-guara (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). Neste estudo, os valores séricos de albumina encontrados em 16 cachorro-do-mato foi de $3,40 \pm 0,53$ g/dl. Em nosso estudo, os valores encontrados foram no intervalo entre 2,7 e 3 g/dl, se aproximado do encontrado no estudo supra citado (GRÁFICO I).

Gráfico I – Limites inferiores e superiores de albumina sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) descritos por Novais *et al.* (2005) em * e valores encontrados no presente estudo em **.



Bush (2004), relata valores de referência para cães domésticos hígidos em 2,5 a 4,0 g/dl, valores próximos aos que encontramos. Esta proteína tem padrão negativo, ou seja, na presença de agentes agressores como um trauma, ela diminui seus níveis, retornando ao normal quando a lesão cessa (ECKERSALL & CONNER, 1988).

Santana (2015), analisou a concentração sérica de albumina em cães com erliquiose aguda, encontrando valores de 2,78 \pm 0,15 g/dl em 24 animais doentes e 3,06 \pm 0,09 g/dl em 18 cães hígidos.

Também, Rubio (2013) realizou um estudo comparativo entre técnica de OSH convencional e minimamente invasiva. Neste estudo, a concentração da albumina diminuiu 14%, permanecendo abaixo do limite de referência (2,60-3,30 g/dL) para cães sete dias após o procedimento de OSH convencional, sugerindo que isso tenha ocorrido em função da reação inflamatória causada pelo trauma cirúrgico. O mesmo não foi observado no grupo de cadelas submetidas à OSH minimamente invasivo já que o trauma cirúrgico é menor.

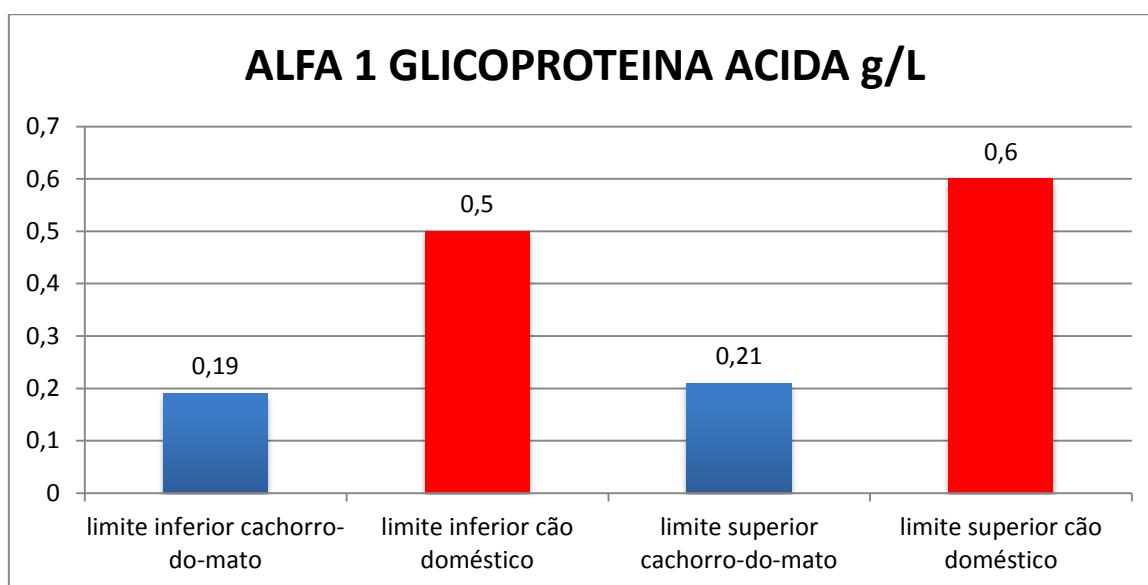
Kocaturk *et al.* (2010) avaliaram proteínas séricas de fase aguda em cães com parvovirose e encontraram níveis de albumina em seu grupo controle de 3,4 g/l e em cães infectados de 2,1 \pm 1 g/l.

Estes estudos podem sugerir que o comportamento da albumina sérica em cachorro-do-mato seja o mesmo, diminuindo em caso de agressões, traumas e outras enfermidades.

Kogica *et al.* (2003) observaram valores alfa 1 glicoproteína ácida sérica de até 3,36 g/l em cães com gastroenterite hemorrágica. Havendo portanto um aumento em comparação ao grupo de cães saudáveis onde os valores foram de 0,5 a 0,6 g/l, demonstrando o padrão de proteína positiva com incremento na presença de injúrias.

Em nosso estudo, utilizando a mesma técnica para mensuração desta proteína de fase aguda, os valores encontrado foram entre 0,19 e 0,21 g/l (GRÁFICO II).

Gráfico II – Limites inferiores e superiores de alfa 1 glicoproteína ácida sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Kogica *et al.* (2003).



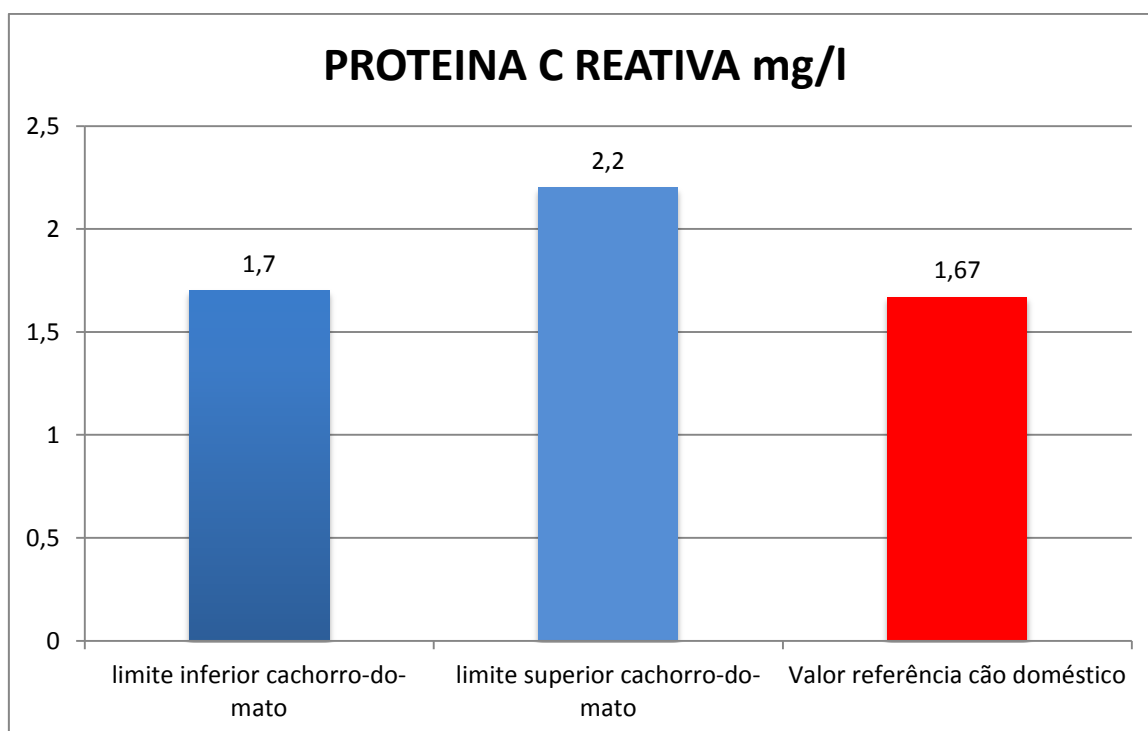
Rikihisa *et al.* (1994) descreveram aumentos alfa 1 glicoproteína ácida sérica de até 10 g/l em um estudo com cães infectados por *Ehrlichia canis*.

Em estudo realizado por Yuki *et al.* (2010) em cães apresentando enfermidades diversas, foram encontrados valores significativamente altos quando comparado com a referência em filariose aguda, hepatopatias agudas e traumatismos.

Hayashi *et al.* (2001) submeteram cães a procedimento de ovariopalingohisterectomia eletiva e encontraram valores pós operatórios de alfa 1 glicoproteína ácida de até 0,9 g/l, indicando que o processo inflamatório não infeccioso promove incremento nesta proteína sérica.

A proteína C reativa é uma das principais proteínas utilizadas para acompanhamento da evolução de quadros graves em humanos e tem aumentado sua utilização em animais (MISCHKE *et al.*, 2007). Este estudo encontrou valores entre 1,7 e 2,2 mg/l nos exemplares de cachorro-do-mato hígidos (GRÁFICO III).

Gráfico III – Limites inferiores e superiores de proteína C reativa (PCR) em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e valor referência em cão doméstico saudável descrito por Mischke *et al.*(2007).



Mischke *et al.*(2007), analisando as alterações de PCR e Hp em cães com neoplasias linfáticas, encontraram níveis de PCR em 37,2 mg/l em linfomas malignos, 47,8 mg/l em leucemia linfoblástica aguda, 35,5 mg/l leucemia linfoblástica crônica e 17,6 mg/l em mielomas. Seu grupo controle foi de 25 cães saudáveis e com valor de PCR em 1,67 mg/l utilizado como parâmetro em nosso trabalho.

Tecles *et al.*(2009), avaliando proteínas de fase aguda em cadelas com tumores mamários, também descreve seu comportamento positivo, aumentando sua concentração na presença de agravos a saúde. Neste caso, a PCR foi avaliada em diferentes estágios das neoplasias, variando de estágio I a V com valores mais altos em 138,3 mg/l.

Em outro estudo conduzido por Martinez-Subiela *et al.*(2011), foram avaliadas as proteínas de fase aguda em cães experimentalmente infectados

por leishmaniose. Seis cães, machos, da raça Beagle foram infectados com amastigotas de *Leishmania Infantum* e, apresentaram resultados de 65,03 mg/l de PCR.

A concentração de PCR também aumentou em cães com demodicose generalizada em estudo conduzido por Ulutas *et al.* (2011). Quatorze animais apresentando a doença e oito do grupo controle onde do primeiro grupo houve incremento de 100% nos valores desta proteína.

Yamamoto *et al.* (1993), mensuraram a PCR em animais com diversas doenças cirúrgicas antes e após o procedimento. Em animais com piometra no momento do diagnóstico, os valores encontrados foram de 61,4 mg/l e de 181,6 mg/l imediatamente após o procedimento. Da mesma maneira ocorreu com cirurgias ortopédicas – 47,6 mg/l e 383,2 mg/l, extração dentária – 30,5 mg/l e 61,2 mg/l e excisão tumoral – 78,5 mg/l e 249,2 mg/l respectivamente. Estes valores demonstram que as doenças provocaram um aumento significativo em PCR sérico, e que a manipulação e trauma cirúrgico promovem um incremento ainda maior.

Mukorera *et al.* (2011) avaliaram a PCR em 14 cães com diagnóstico de infecção por *Spirocerca lupi* antes e após o tratamento com doramectina. Na fase inicial, previamente a primeira dosagem, os níveis de PCR eram de 87,0 mg/l e após o tratamento os valores foram de 1,8 mg/l.

Estes estudos demonstram a importância da mensuração seriada de PCR para identificar a gravidade das alterações e também para o acompanhamento do tratamento e identificação da recuperação ou agravamento do quadro, auxiliando os médicos veterinários na manutenção ou reavaliação da terapêutica. Os valores obtidos em cães domésticos foram semelhantes ao encontrado por nosso estudo que é uma primeira descrição em cachorro-do-mato, podendo, portanto, indicar que a extrapolação para esta espécie pode ser realizada.

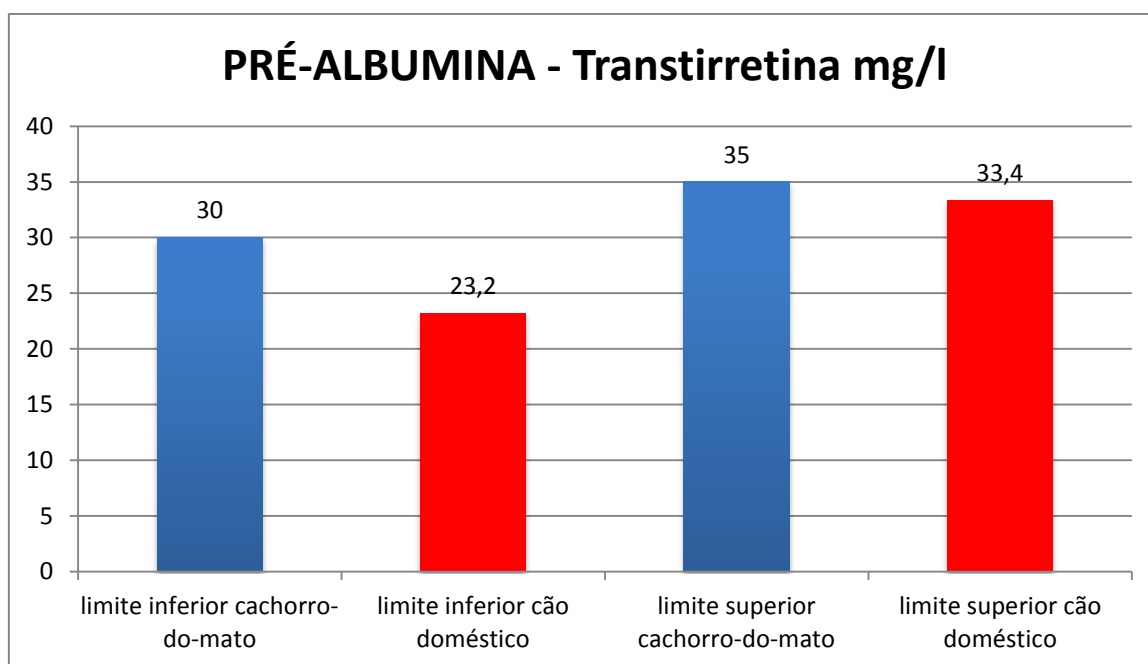
A transtirretina é uma proteína de fase aguda considerada negativa, tendo em visto que em alterações nutricionais e inflamatórias seus níveis séricos diminuem (ECKERSALL *et al.*, 2008).

Em humanos, esta proteína tem sido utilizada para avaliar status nutricionais e a função tireoideana, uma vez que ela faz o transporte dos hormônios da tireóide e também como proteína de fase aguda em acompanhamento de processos inflamatórios (JOHNSONS *et al.*, 2007; PALTRINIERI, 2007).

Na medicina veterinária, seu uso como fator prognóstico ainda é inicial e com poucos artigos disponíveis nas bases de dados, sendo utilizada também como acompanhamento nutricional e de função tireoidiana. Piechotta *et al.* (2012) relata valores referência em cães domésticos entre 23,2 e 33,4 mg/l quando comparou sua concentração sérica com doenças não tireoidais diversas.

Em nosso estudo, a concentração sérica encontrada em cachorro-do-mato hígidos foi entre 30 e 35 mg/l, sendo próxima aos valores encontrados por Piechotta *et al.* (2012) (GRÁFICO IV).

Gráfico IV – Limites inferiores e superiores de pré-albumina (transtirretina) sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Piechotta *et al.* (2012).



Segundo Cynober (2009), por ter suas concentrações plasmáticas alteradas em diversas situações, a análise conjunta de outras proteínas de fase

aguda se torna necessária para estabelecer suas correlações clínicas (TABELA 3) em humanos.

Tabela 3 – Correlação dos valores de transtirretina e demais proteínas de fase aguda com situação clínica em humanos descrito por Cynober (2009).

SITUAÇÃO CLÍNICA	OUTRAS PROTEÍNAS	TRANSTIRRETINA
Comprometimento do status nutricional	Proteína C reativa e Alfa 1 glicoproteína ácida normais	Diminuição
Melhoria no status nutricional	Proteína C reativa normal	Elevação
Redução da inflamação com ou sem melhora nutricional	Proteína C reativa diminuída	Elevação
Resposta inflamatória	Proteína C reativa aumentada	Diminuição

Pelo fato das outras proteínas de fase aguda em cachorro-do-mato, cães domésticos e humanos terem o mesmo comportamento, entendemos que esta correlação clínica para a transtirretina possa ser utilizada, entretanto, se torna necessário maiores estudos.

Ceron, *et al.* (2005) e Zaldívar-López, *et al.* (2014) relatam que a concentração de haptoglobina pode ser utilizada como diagnóstico e prognóstico em vários processos inflamatórios. Segundo os autores, a resposta ao seu estímulo pode variar de duas a dez vezes sua concentração no plasma após 24 horas e permanecer por três a quatro dias. Eles relatam valores referência para haptoglobina em cães domésticos em até 3 g/l.

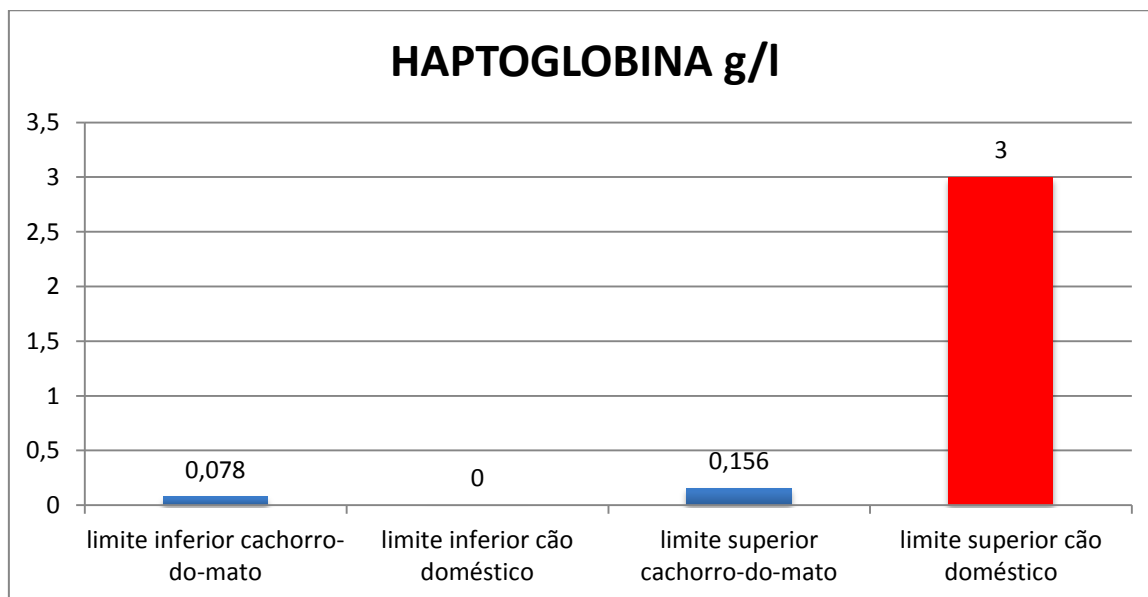
Esta proteína também teve incremento em cães com inflamações agudas tanto local quanto sistêmicas apresentando média de 12 g/l mas com picos de 20 g/l segundo Tecles *et al.* (2005). Mylonakis *et al.* (2012) relatam que dezenove cães sintomáticos para espirocercose apresentaram valores de haptoglobina 5,5 vezes maiores que o grupo controle de cães saudáveis.

Em animais com parvovirose, os valores de haptoglobina aumentaram mais de 10 vezes quando comparados ao grupo controle de animais hígidos segundo Kocaturk *et al.* (2010). Também em cães com linfoma, foram verificadas concentrações de até 10,035 g/l de haptoglobina segundo Calazans *et al.* (2009). Demonstrando ser um excelente marcador para doenças crônicas. Assim como Sheahan *et al.* (2010) que identificou aumentos de haptoglobina em cães com doenças nasais como aspergilose onde o valor médio foi de 5,2 g/l e neoplasia nasal com valor médio de 4,1 g/l.

Tecles *et al.*(2009) estudaram proteínas de fase aguda em animais com neoplasias mamárias em diversos estágios. A haptoglobina em tumores de estágio IV teve valores médios de 5,46 g/l com pico de até 6,7 g/l. E Mischke *et al.*(2007), avaliaram cães com leucemia linfoblástica aguda onde também tiveram aumento na concentração de haptoglobina em um estudo realizado por com níveis médios de 6,8 g/l.

Avaliando a haptoglobina, nosso estudo identificou o intervalo de 0,078 a 0,156 g/l nos exemplares de cachorro-do-mato (GRÁFICO V) com grande diferença entre os resultados obtidos por Ceron *et al.*(2005) em estudo com diversas raças, porém, Couto *et al.*(2009) encontraram valores de haptoglobina e alfa 1 glicoproteína ácida em Greyhounds em valores menores do que em outras raças de cães domésticos e relatam a necessidade de mais estudos para identificar a causa desta diferença.

Gráfico V – Limites inferiores e superiores de haptoglobina sérica em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) deste estudo e em cão doméstico descrito por Ceron *et al.* (2005).



A hipótese é que os cachorro-do-mato tenham um valor referência de haptoglobina efetivamente menor do que os cães domésticos, necessitando de maiores estudos em condições patológicas para acompanhar a sua cinética e termos uma melhor compreensão nesta espécie.

Com o advento de valores referência de proteínas inflamatórias de fase aguda em humanos e outras espécies animais, foram desenvolvidos alguns índices que envolvem duas ou mais destas proteínas com mais sensibilidade e como fatores prognósticos e nutricionais como o Índice Prognóstico Inflamatório Nutricional (IPIN) criado por Ingenbleenk e Carpentier (1985) e o Índice Nutricional e de Fase Aguda (NAPI) descrito por Jain *et al.* (2011).

O IPIN descrito por Ingenbleenk & Carpentier (1985) utiliza a alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, albumina e transtirretina para sua avaliação. Em nosso estudo, os valores para cachorro-do-mato destas proteínas foram similares aos de referências descritos na literatura para cães, portanto podemos inferir que o quadro avaliativo possa ser utilizado para cachorro-do-mato.

Em nosso estudo utilizamos o limite superior para o calculo de IPIN e aplicando na fórmula abaixo:

$$\text{IPIN} = \frac{\text{alfa-1-GA} + \text{PCR}}{\text{Alb} \times \text{TTR}}$$

$$\text{IPIN} = \frac{0,19 \times 1,7}{2,7 \times 30} = 0,006$$

Ingenbleenk & Carpentier (1985) preconizam que em humanos, valores de $\text{IPIN} \leq 1$ são normais e valores ≥ 1 são considerados altos. Em nosso estudo, considerando que é o primeiro relato das proteínas de fase aguda em cachorro-do-mato, inferimos que valores de IPIN para esta espécie $\leq 0,006$ são normais e valores $\geq 0,006$ são considerados altos.

5. CONCLUSÕES

Concluímos neste estudo inicial que os valores de albumina, alfa 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, pré-albumina e haptoglobina em a serem considerados de forma inicial como referência em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766) são: albumina: entre 2,7 e 3,0 g/dl, alfa 1 glicoproteína ácida: entre 0,19 e 0,21 g/l, proteína C reativa: entre 1,7 e 2,2, pré-albumina: entre 30 e 35 mg/l e haptoglobina: entre 0,078 e 0,156.

Em nosso estudo, considerando que é o primeiro relato das proteínas de fase aguda em cachorro-do-mato, inferimos que valores de IPIN para esta espécie $\leq 0,006$ são normais e valores $\geq 0,006$ são considerados altos.

É importante ressaltar que esta prima descrição servirá como base para estudos onde poderão se utilizados animais com doenças específicas e, após as análises, comparadas com os valores encontrados neste estudo e verificados se o comportamento segue a semelhança de cães domésticos.

6. REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K., et al. **Celular and Molecular Immunology**. (3th ed.). Wb. Saunders Company, 1997.
- AYRES, M., JÚNIOR AYRES., AYRES D. L., SANTOS A. S. **BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém, Sociedade Civil Mamirauá. 364p, 2007.
- Battisti, M. K. B, et al., Acute phase proteins in female dogs with mammary tumors, **Ciência Rural, Santa Maria**, v.43, n.5, p.902-907, mai, 2013
- BAUMANN. H; GAULDIE, J. The acute phase response. **Imunnology Today**, 15: 74 – 80, 1994.
- BERTA, A. *Cerdocyon thous*. **Mammalian Species**, Washington, 186: 1-4, 1982.
- BISBAL FJ e JD OJASTI. Nicho trófico del zorro *Cerdocyon thous* (Mammalia Carnivora). *Acta Biologica Venezuelana* 10: 469-496, 1980.
- BONAGURA JD, TWEDT DC, editors. **Kirk's Current Veterinary Therapy**. 14th ed. St Louis, Missouri: Saunders (Elsevier), pp. 860–863, 2009.
- BRADY, C.A. Observations on the behavior and ecology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). p.161-167. In: J.F. EISENBERG (Ed.). **Vertebrate ecology in the Northern Neotropics**. Washington, D.C., Smithsonian Institution Press, 271p, 1979.
- Calamita, Z. & Burini, R.C. Fatores reguladores dos níveis plasmáticos de transtiretina e proteína ligadora do retinol. **Rev. Bras. Pat. Clin.**, 29:148-53, 1993.
- CALAZANS, S.G. et al. Proteinograma sérico de cães saudáveis e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliácridamida (SDS-PAGE). **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 61: 1044-1048, 2009.
- Caspi, D.; Baltz, M.L.; Snel, F.W.; Gruys, E.; Niv, D.; Batt, R.M.; Munn, E.A.; Buttress, N.; Bennett, D.; Pepys, M.B. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. **Immunology** 1984, 53: 307-313.
- CÉRON, J. et al. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, 34: 85-99, 2005.

Cheryk, L.A.; Hayes, M.A.; Gentry, P.A. Modulation of bovine platelet function by C-reactive protein. **Veterinary immunology and immunopathology** 1996, 52:27-36.

Conner, J.G.; Eckersall, P.D.; Ferguson, J.; Douglas, T.A. Acute phase response in the dog following surgical trauma. **Research in Veterinary Science** 1988, 45: 107- 110.

CORAZZA, M.; et al., Dati preliminari sulla determinazione dell'aptoglobina in cani sani ed affetti da patologie in fase acuta e cronica. **Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria de Pisa**, Pisa, v. 12, p. 241-249, 1997.

Corrêa, C.R. & Burini, R.C. Proteínas plasmáticas positivas à fase aguda. **J. Bras. Patol.**, 36(1): 48-56, 2000.

COURTENAY, O.; MAFFEI, L. 2008. *Cerdocyon thous*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 08 April 2014

COUTO, G.C. et al. Acute phase protein concentration in retired Racing Greyhounds. **Veterinary Clinical Pathology**, 38 :219-223, 2009.

CUETO, L.Z. et al, Utilidad del índice de pronóstico inflamatorio y nutricional (PINI) en el diagnóstico de niños con desnutrición grave. **Gaceta Médica Boliviana**, 35: 7-11, 2012.

CYNOBER, L. Basics in clinical nutrition: Some laboratory measures of response to nutrition in research and clinical studies. E-SPEN, **The European e- Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**. v. 4, p. 226–228, 2009.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 117-155, 2008.

Eckersall, P.D.; Conner, J.G.; Parton, H. A turbidimetric immunoassay for canine C- reactive protein. **Veterinary Research Communications** 1991, 15: 17-24.

EMMONS L e F FEER. **Neotropical Rainforest Mammals: a field guide**. 2^o Ed. University Chicago Press, Chicago 307 pp, 1997

ETTINGER, S. J. & FELDMAN, E. C., In: **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, São Paulo, 2256 p., 2004.

Fleck, A.; Colley, C.M. & Myeres, M.A. Liver export proteins and trauma. **Br. Med. Bull.**, 41(3): 265-73, 1985.

FUHRMAN, M. P.; et al. Hepatic proteins and nutrition assessment. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 104, n. 8, p. 1258-1264, 2004.

Fujise, H.; Takanami, H.; Yamamoto, M.; Ohta, I.; Yamamoto, s.; Fukase, T.; Naiki, M.; Akihama, S.; Ogawa, E.; Takahashi, R. Simple isolation of canine C-reactive protein (CRP) by phosphorylcholine (PC) affinity chromatography. **J. Vet. Med. Sci.** 1992, 54(1):165-167.

GABAY C., KUSHNER I.: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **N. Engl. J. Med.**, 1999, 340, 448-454.

Grotto, H.Z.W.; Borba, R.; Noronha, J.F.A.; Bertozzi, L.C. Measurement of C-reactive protein by Micros CRP: Its use in an Emergency Department. **Laboratory Hematology** 2002, 8: 17-21.

GRUYS, E. Acute phase reactants, challenge in the near future of animal production and veterinary medicine. **Journal of Zhejiang University Science B**, 6: 941 – 947, 2005.

Gutiérrez, A.M.; Martínez-Subiela, S.; Eckersall, P.D.; Cerón, J.J. C-reactive protein qualification in porcine saliva: A minimally invasive test for pig health monitoring. **The Veterinary Journal** 2008b,

Gutiérrez, A.M.; Martínez-Subiela, S.; Montes, A.; Parra, M.D.; Cerón, J.J. C-reactive measurements in meat juice of pigs. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 2008a, 122: 250-255.

HAGMAN R. Serum α -1-acid glycoprotein concentrations in 26 dogs with pyometra. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 40, n.1, p. 52-59. 2011.

HAYASHI, S. et al. A comparison of the concentrations of C-reactive Protein and α -1-acid glycoprotein in the serum of Young and adult dogs with acute inflammation. **Veterinary Research Communications**, 25: 117-126, 2001.

Hulten, C., Gronlund, U., Hirvonen, J., Tulamo, R.M., Suominen, M.M., Marhaug, G., Forsberg, M., 2002. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and α -2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. **Equine Veterinary Journal** 34, 699–704.

INGENBLEEK, Y., CARPENTIER, Y.A. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, 55: 91-101, 1985.

JAIN, S. et al. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Science**, 3: 118-127, 2011.

Jaye, D.L.; Waites, K.B. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. **The Pediatric Infectious Disease Journal** 1997, 16(8):735-747.

JOHNSON, A. M. et al. Clinical indications for plasma proteins assays: transthyretin (prealbumin) in inflammation and malnutrition. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, 45: 419-426, 2007.

JUAREZ KM; MARINHO-FILHO J. Diet, habitat use and home ranges of sympatric canids in central Brazil. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 4, p. 925-933. 2002.

Kajikawa, T., Furuta, A., Onishi, T., Tajima, T., Sugii, S., 1999. Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha 1- acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 68, 91–98.

KENIS, G. *et al.* Stability of interleukin 6, soluble interleukin 6 receptor, interleukin 10 and CC16 in human serum. **Cytokine**, 19: 228-235, 2002.

Kjelgaard-Hansen, M.; Jensen, A.L.; Kristensen, A.T. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of C- reactive protein in canine serum. **J. Vet. Med.** A 2003a; 50:164-8.

Kjelgaard-Hansen, M.; Jensen, A.L.; Kristensen, A.T. Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration. **Veterinary Clinical Pathology** 2003b; 32(2): 81-7.

KOCATURK, M., et al, Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. **Journal of Small Animal Practice**, v.51, p. 478-483, 2010.

KOLISKI, A. *et al.* Lactato sérico como marcador prognóstico em crianças gravemente doentes. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 81: 287-292, 2005.

KUMAR. V. et al. Inflamação aguda e crônica. in: **Bases patológicas das doenças**, Elsevier, Rio de Janeiro, 2005.

Kuribayashi, T., Shimada, T., Matsumoto, M., Kawato, K., Honjyo, T., Fukuyama, M., Yamamoto, Y. & Yamamoto, S. (2003). Determination of Serum

C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs. **Experimental Animals**, 52(5), 387-390.

KUSHNER I., et al. C-reactive protein and the acute phase response. **J. Lab. Clin. Med.** 97: 739-749, 1981.

LANGGUTH, A Ecology and evolution in the South American canids, p. 192-206. *In*: M.W. FOX (Ed.). **The wild canids: their systematics, behavioral ecology, and evolution**. New York, van Nostrand Reinhold Co., XVI+508p. 1975.

Lee, W.; Hsiao, H.; Wu, Y.; Lin, J.; Lee, Y.; Fung, H.; Chen, H.; Chen, Y.; Chu, R. Serum C-reactive protein in dairy herds. **The Canadian Journal of Veterinary Research** 2003, 67: 102-107.

Leeuwen, M.A.V.; Rijswijk, M.H. Acute phase proteins in the monitoring of inflammatory disorders. **Bail** 1994, 8(3): 531-552.

LORENZÃO, C. J.; et al. Dados preliminares sobre a formação do plexo lombossacral em graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*) e graxaim-do-campo (*Dusicyon gymnocercus*). **XII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, XV Mostra de Iniciação Científica e X Mostra de Extensão, UNICRUZ**, 2012.

LOWRIE, M.; et al, The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs. **Veterinary Journal**, London, v. 182, p. 125-130, 2009.

MACDONALD DW e O COURTENAY. Enduring social relationships in a population of crab-eating zorro, *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil. **Journal of Zoology**. London 239:329-355, 1996.

Malavé, I. *et. al.* Serum levels of thyroxine- binding prealbumin, C-reactive protein and interleikin-6 in protein- energy undernourished children and normal controls without or with associated clinical infectious. **J. Trop. Pediatr.**, 44: 256-62, 1998.

Marnell, L., et al. (2005). C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. **Clin. Immunol.** 117, 104–111.

MARTINEZ-SUBIELA, S.; et al. Canine C-reactive protein measurements in cerebrospinal fluid by a time-resolved immunofluorimetric assay, **J Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 23, p. 63-67, 2011.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; *et al.* Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinária. **Annals Veterinary (MURCIA)**, v. 17, p. 97-114, 2001.

Maudsley, S. & Pepys, M. B. (1987). Immunochemical cross-reactions between pentraxins of different species. **Immunology**, 62(1), 17-22.

McGrotty, Y.L.; Knottenbelt, C.M.; Ramsey, I.K.; Reid, S.W.J.; Eckersall, P.D. Evaluation of a rapid assay for canine C-reactive protein. **The Veterinary Record** 2004; 154(7): 175-6.

MISCHKE, R. *et al.* Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. **Veterinary Journal**, 174 : 188-192, 2007.

MOTGOMERY GG e YD LUBIN. Social structure and food habits of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Venezuelan Llanos. **Acta Científica Venezolana** 29:382-383, 1978

Mukorera, V., *et al.* (2011) Serum C-reactive protein concentration in benign and malignant canine spirocercosis. **Journal Veterinary Internal Medicine** 25, 963-966

MYLONAKIS, M.E. *et al.* Serum acute phase proteins in dogs with symptomatic esophageal spirocercosis. **Veterinary Parasitology**, 190: 191-195, 2012.

NOGUEIRA F. S.; *et al.*, Alterações no proteinograma de animais portadores de leishmaniose visceral canina. **Ciências Agrárias e da Saúde-FEA**, Andradina, v. 2, n. 2, p. 25-27, 2002.

NOVAIS, A.A, *et al.* Valores sanguíneos de referência e investigação sobre a presença de antígeno eritrocitário caninos em lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v11, n1, p 59-67, 2005.

NOWAK, R.M. **Walker's mammals of the world**. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, vol. 1, 6th ed., LI+836p, 1999.

Onishi, T.; Shimizu, T.; Kajikawa, T. Simple and efficient purification of C-reactive protein from canine serum. **The Journal of Veterinary Medical Science** 1994, 22: 77- 85.

Otabe, K.; Sugimoto, T.; Jinbo, T.; Honda, M.; Kitao, S.; Hayashi, S.; Shimizu, M.; Yamamoto, S. Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. **Veterinary Research Communications** 1998; 22: 77-85.

PALTRINIERI, S. Early biomarkers of inflammation in dogs and cats: the acute phase proteins. **Veterinary Research**, 31: 125-129, 2007.

PARRA, M. D.; et al. Use of a time-resolved immunofluorometric assay for determination of canine C—reativa protein concentrations in whole blood. **American Journal of Veterinary Research**, 66: 62-66, 2005.

PARRA, M.D.; et al., Porcine acute phase protein concentrations in different disease in field conditions. **J. Vet. Med. B** 2006b, 53: 488-493.

PARRA, M.D.; et al., Analytical and clinical validation of time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) for canine C- reactive protein in serum. **Veterinary Research Communications** 2006a, 30: 113-26.

PEPYS, M. B.; BALTZ, M.L. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. **Advances in Immunology**, 34: 141-212, 1983.

PERACCHI, A.L.; V.J. ROCHA & N.R. DOS REIS. Mamíferos não voadores da bacia do rio Tibagi. P.225-249. *In*: M.E. MEDRI; E. BIANCHINI; J.A. PIMENTA & O. SHIBATTA (Eds). **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina, MC Gráfica, 593p, 2002.

PEREIRA, P. C. M.; BURINI, R. C. Reação metabólica à infecção no hospedeiro. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina**. São Paulo, v. 47, p.111-115, 1992.

PIECHOTTA, M. et al. Serum transthyretin concentration is decreasead in dogs with nonthyroidal illness. **Veterinary Clinical Pathology**, 41: 110-113, Jan. 2012.

PLANELLAS, M.; et al. Evaluation of serum haptoglobin and c-reactive protein in dogs with mamary tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 38, p. 348-352, 2009.

RIKIHISA, Y. et al. C-reactive protein and Alfa1-acid glycoprotein levels in dogs infected with *Ehrlichia canis*. **Journal of Clinical Microbiology**, 32: 912-917, Abr. 1994.

ROCHA, V. J.; et al. Dieta e dispersão de sementes por *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnívora, Canidae) em um fragmento florestal no Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 871–876, 2004.

ROSSI JÚNIOR, J. et al. Avaliação das alterações odontológicas em sínclônios de *Cerdocyon thous* oriundos de atropelamentos na rodovia ES-060, Espírito Santo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33: 785-790, Jun, 2012.

SANTOS, R.L. & ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. São Paulo, Editora Roca, 1ª Edição. 2011.

SHEAHAN, D. et al. Acute phase protein concentrations in dogs with nasal disease. **Veterinary Record**, 167: 895-899, Dez. 2010.

SORENSEN, N. S. *et al.*, The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 113 : 157–168 2006.

STEEL, D. M., WHITEHEAD, A. S., The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. **Immunology Today**, 15: 81-88, 1994.

STREETZ, K.L. *et al.* Mediators of inflammation and acute phase response in the liver. **Cellular and Molecular Biology** (Noisy-le-Grand, France). 47: 661 – 673, 2001.

Tagata, K.; Yokohama, S.; Ginbo, T.; Honda, M.; Okimara, T.; Odakura, M; Nomura, M.; Yamamoto, S. Quantitative capillary reversed passive latex agglutination test for C-reactive protein (CRP) in the dog. **Veterinary Research Communication**, 1996, 20: 20-31.

TECLES, F. et al. Preliminary studies of sérum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 19: 865-870, 2005.

TECLES.F. et al. Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. **Journal of Veterinary Diagnostics and Investigation**, 21: 214-219, 2009.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 592p

TURCI, L.C.B.; BERNARDE, P.S. Vertebrados atropelados na Rodovia Estadual 383 em Rondônia , Brasil. **Biotemas**. Pp 121-127, 2009.

ULUTAS, P. A.; et al, Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. **Research in Veterinary Science**, London, v. 86, p. 373–376, 2009.

WILSON, D.E.; D.M. REEDER. Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference. Washington, D.C., Smithsonian Institution Press, **The American Society of Mammalogists**. 1993, 2nd ed., 1206p

Yamamoto S, et al, Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. **Vet Immunol Immunopathol** 30(4): 329-39, 1992.


Yamamoto, S.; Abe, N.; Santsuka, H.; Shida, T.; Kishida, K.; Kuwajima, S.; Yamada, M.; Morimatsu, M.; Naiki, M. Efficient preparation of monospécific anti-canine C-reactive protein serum and purification of canine C-reactive protein by affinity chromatography. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 1993, 36(3): 293-301.

Yamashita, K.; Fujinaga, T.; Miyamoto, T.; Magio, M.; Izumikawa, Y.; Kotani, T. Canine acute phase response: Relationship between serum cytokine activity and acute phase protein in dogs. **Journal Veterinary Medicine Science** 1994, 56: 487-492.

YUKI, M. et al. Serum Alfa1-acid glycoprotein concentration in clinically healthy puppies and adult dogs and in dogs with various diseases. **Veterinary Clinical Pathology**, 39: 65-71, Jan. 2010.

ZALDÍVAR-LÓPEZ, S. et al. Haptoglobin concentration in galgos and greyhounds. **Veterinary Record**, 170: 496-498, Jul. 2014.

7. ANEXOS

	OUTROS DOCUMENTOS - OD		Nº: CTA-OD-007
	PARECER CONSUBSTANCIADO CEUA - CTA		Versão 00
			Data: 16/07/2014
			Revisão: -

Nº DO PARECER: **CEUA_041_2014**

TÍTULO DO PROJETO/PROTOCOLO: "Avaliação da proteína C reativa, lactato, haptoglobina, albumina, alfa 1 glicoproteína ácida e ceruloplasmina em cachorro do mato (*Cerdocyon Thous* - Linnaeus, 1766)".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: **Rogério Magno do Vale Barroso**

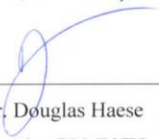
LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO: **UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

PARECER: **APROVADO**

A comissão de Ética de Uso de Animais em Pesquisa (CEUA) do CTA – Centro de Tecnologia Animal Ltda., emite parecer **APROVADO** por considerar que o Projeto/Protocolo está em conformidade com os Requisitos Fundamentais das Normas de Conduta para Utilização de Animais em Pesquisas no CTA.

O pesquisador responsável (Coordenador) se responsabiliza em executar o estudo em conformidade com o Projeto/Protocolo aprovado pela CEUA-CTA. Qualquer alteração no mesmo deverá ser comunicada, a esta Comissão. Ao término do estudo, uma cópia em PDF deverá ser enviada à CEUA-CTA.

Domingos Martins, 26 de março de 2015.



 Prof. Dr. Douglas Haese
 Médico Veterinário, CRMV/ES – 604
 Coordenador da CEUA-CTA

CENTRO DE TECNOLOGIA ANIMAL LTDA
 Estrada Paraju x Ponto Alto, Km 2, s/n. CEP. 29273-000 Paraju – Domingos Martins – ES
 Fone: (27) 3249 1048
www.ctapesquisas.com.br