

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ - UEM
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
Campus Umuarama - PR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL

Autora: MELISSA CAROLINE FERRARI

Título da dissertação: ESTUDO CLÍNICO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM
CÃES POR ANÁLISE RADIOGRÁFICA, MENSURAÇÃO DE VELOCIDADE DE
HEMOSEDIMENTAÇÃO E INTERLEUCINA-6

Umuarama
Janeiro/2020

MELISSA CAROLINE FERRARI

**ESTUDO CLÍNICO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM CÃES POR ANÁLISE
RADIOGRÁFICA, MENSURAÇÃO DE VELOCIDADE DE
HEMOSEDIMENTAÇÃO E INTERLEUCINA-6**

**PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL**

Orientador: Prof. Dr. Juliano Bortolo De Conti

Umuarama/2020

Versão final da dissertação defendida pela aluna Melissa Caroline Ferrari e orientador Prof. Dr. Juliano Bortolo De Conti

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família, principalmente aos meus pais, que me permitiram chegar até aqui. Vocês são a minha vida.

AGRADECIMENTO

Agradeço à Deus por não ter me desamparado e ter me dado força pra não desistir.

Agradeço aos meus amigos, orientador e à todos que colaboraram para a conclusão desse projeto.

RESUMO

A displasia coxofemoral é uma alteração do desenvolvimento que afeta a cabeça e colo femoral e o acetábulo. Sua transmissão é hereditária, recessiva, intermitente e poligênica. Fatores nutricionais, biomecânicos e de meio ambiente, associados à hereditariedade, pioram a condição da displasia. Tendo em vista sua grande complexidade e importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, estudos com fins de elucidar suas causas e buscar alternativas de tratamento são um desafio para a medicina veterinária contemporânea. O estudo foi realizado com um grupo teste composto por 8 animais acometidos por displasia coxofemoral e um grupo controle, composto por 4 animais saudáveis. Foi realizado exame ortopédico, radiográfico, teste de velocidade de hemossedimentação e mensuração de interlucina-6 do líquido sinovial coletado por punção da articulação coxofemoral. Encontrou-se correlação entre a idade dos animais e o grau de claudicação e correlação entre o valor do VHS e o grau de displasia, sendo que quanto maior o grau de displasia, menor será o VHS, sugerindo que quando o animal desenvolve osteoartrose, o mesmo não possui mais inflamação na articulação.

ABSTRACT

Hip dysplasia is a developmental disorder that affects the head and femoral neck and the acetabulum. Its transmission is hereditary, recessive, intermittent and polygenic. Nutritional, biomechanical, and environmental factors associated with heredity worsen the condition of dysplasia. Given the great complexity and importance of animals in the company's medical and surgical clinic, studies to clarify their causes and seek treatment alternatives are a challenge for contemporary veterinary medicine. The study was conducted with a test group composed of 8 animals with hip dysplasia and a control group composed of 4 healthy animals. Orthopedic, radiographic examination, erythrocyte sedimentation rate test and interleukin-6 measurement of the synovial fluid collected by coxofemoral joint puncture were performed. A correlation was found between the age of the animals and the degree of lameness and a correlation between the value of the VHS and the degree of dysplasia, and the higher the degree of dysplasia, the lower the VHS, suggesting that when the animal develops osteoarthritis, it even no longer has inflammation in the joint.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Foto de imagem radiográfica de cão realizada em decúbito dorsal evidenciando displasia coxofemoral bilateral 20

FIGURA 2. Animal em decúbito lateral esquerdo em plano anestésico com membro pélvico em abdução, cateter 18G sendo inserido crânio-dorsal ao trocânter maior do fêmur, para que possa ultrapassar pele, subcutâneo, musculatura e cápsula articular para coleta do líquido sinovial, aspirado com seringa 20 ml 23

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1. Resultados da avaliação clínica, radiográfica e hematológica de animais com displasia coxofemoral, sendo graduado displasia de acordo com quadro 2, claudicação de acordo com quadro 1 e valor da velocidade de hemossedimentação sendo 60'=60 minutos, 90'=90 minutos e 120'=120 minutos 27

TABELA 2. Resultados da avaliação clínica, radiográfica e hematológica de animais sem displasia coxofemoral, sendo graduado displasia de acordo com tabela 6, claudicação de acordo com tabela 5 e VHS sendo 60'=60 minutos, 90'=90 minutos e 120'=120 minutos 28

TABELA 3. Resultados da análise de interleucina-6 através do método de Elisa de acordo com as orientações do fabricante (canine IL6 elisa kit – thermo scientific EUA/Canada) dos cães do grupo controle e do grupo teste. 29

TABELA 4. Tabulação da curva padrão de IL-6. 30

QUADRO 1. Escala analógica de claudicação à deambulação, utilizada para classificação dos animais 19

QUADRO 2. Escala de Classificação dos graus de Displasia Coxofemoral classificado segundo Orthopedic Foundation for Animals. Utilizada para graduação da displasia coxofemoral 21

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1.** Gráfico representando a curva padrão de IL-6 31
- GRÁFICO 2.** Gráfico representando a curva padrão de IL-6 com as concentrações em ng/ml de interleucina-6 obtidas no líquido sinovial dos cães do grupo teste e controle 32

SUMÁRIO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1.1. Displasia Coxofemoral.....	10
1.2. Osteoartrite.....	11
1.3. Osteoartrose.....	12
1.4. Líquido Sinovial	13
1.5. Processo inflamatório	14
1.6. Velocidade de Hemossedimentação	16
1.7. Interleucina 6 (IL-6)	17
2. OBJETIVO	18
2.1. OBJETIVO GERAL.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Critérios de Inclusão.....	21
3.2. Critérios de Exclusão.....	22
3.3. Coleta do Líquido sinovial.....	22
3.4. Dosagem da Interleucina-6.....	24
3.5. Exame laboratorial (hematológico)	24
3.6. Análise Estatística	24
4. RESULTADOS	24
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Displasia Coxofemoral

A displasia coxofemoral (DCF) é uma alteração do desenvolvimento que afeta a cabeça e colo femoral, e o acetábulo. Sua transmissão é hereditária, recessiva, intermitente e poligênica. Fatores nutricionais, biomecânicos e de meio ambiente, associados à hereditariedade, pioram a condição da displasia (Sommer, 1998).

Segundo a Orthopedic Foundation for Animals (OFA, 2018), as raças com maior número de avaliações para DCF entre janeiro de 1974 a dezembro de 2008 foram Golden Retriever, Labrador e Pastor Alemão, sendo as raças de médio e grande porte as mais acometidas.

O animal com DCF pode apresentar os sintomas da afecção em diferentes idades, ou ainda, não apresentar sinais, tornando-os assintomáticos (MCLAUGHLIN; TOMLINSON, 1996b). Os animais com 4 a 12 meses de idade, comumente, apresentam o surgimento agudo dos sinais clínicos, demonstrando diminuição da atividade física acompanhada de dor e/ou claudicação dos membros pélvicos, causada pela efusão articular instalada, estiramento do ligamento redondo, sinovite, microfraturas no acetábulo e erosão da cartilagem articular. Já os cães com mais de 12 meses apresentam sinais clínicos que resultam das alterações degenerativas na articulação, seus sinais, na maioria das vezes, estão ocultos, podendo surgir repentinamente como resultado de um trauma (FRIES E REMEDIOS, 1995; MCLAUGHLIN E TOMLINSON, 1996a). Os sintomas mais comuns são relutância ao movimento, dificuldade em sentar e levantar e ao subir e descer rampas e escadas, dor articular e claudicação (MCLAUGHLIN; TOMLINSON, 1996b).

A recomendação para o diagnóstico confirmatório de DCF nos cães é realizado pelo método radiográfico convencional (MCR) aos 24 meses de idade, preconizado pelo Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária (CBRV) (NOGUEIRA *et al.*, 2005; ABRV, 2016). E o método de avaliação da displasia coxofemoral recomendado pelo CBRV é a medida do ângulo de Norberg (AN), juntamente com a verificação da presença de doença articular degenerativa (FROES *et al.*, 2009).

Os sinais radiograficamente apurados são arrasamento da fossa acetabular, achatamento da cabeça do fêmur, subluxação ou luxação coxofemoral e alterações secundárias da articulação (TÔRRES, 1993; BARROS *et al.*, 2008).

Tendo em vista a grande complexidade dessa patologia e sua importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, estudos com fins de elucidar suas causas e buscar alternativas de tratamento são um desafio para a medicina veterinária contemporânea.

1.2. Osteoartrite

A osteoartrite é uma doença articular progressiva comum, que afeta cães independente de idade, raça ou sexo, e possui etiologia variada, sendo comum os distúrbios hereditários, ostecondrose, fragmentação do processo coronóide, luxação de patela e ruptura do ligamento cruzado cranial (PLICKERT *et al.*, 2013).

Esta condição é muitas vezes confundida e descrita como osteoartrose ou doença articular degenerativa (DAD), no entanto isto não é adequado tendo em vista que a osteoartrite não é simplesmente um processo de desgaste, e sim um processo de remodelação articular anormal guiada por mediadores inflamatórios dispersos no líquido sinovial (GOMES, 2015). Muitos fatores envolvidos na osteoartrite ainda não foram totalmente compreendidos, no entanto a fisiopatologia é considerada uniforme, sendo descrito em vários estudos a inflamação presente no início e na progressão da doença (PLICKERT *et al.*, 2013).

Ainda não está amplamente descrito na literatura parâmetros hematológicos ou sorológicos definidos para diagnóstico da osteoartrite (MILLIS E LEVINE, 2014), na avaliação do líquido sinovial a contagem de células nucleadas pode estar normal ou aumentada, macroscopicamente pode estar ligeiramente menos viscoso que normal (TAYLOR, 2009).

A conduta terapêutica é baseada em tentativa de prevenção, desaceleração da progressão e gerenciamento dos sinais clínicos (MEHLER, 2016). Em seus últimos estágios, a osteoartrite leva a constante desconforto, dor progressiva e diminuição da qualidade de vida dos pacientes afetados (HEIKKILÄ, 2014), a terapia de suporte é estruturada em AINES (anti-inflamatório não esteroide) (BOUND, 2011) os quais

podem gerar efeitos indesejáveis como lesão à mucosa gástrica, lesão renal e hepática (HEIKKILÄ *et al.*, 2014).

1.3. Osteoartrose

Doença articular degenerativa ou osteoartrose (OA) é uma síndrome articular relativamente comum no homem, principalmente em pacientes idosos (LAWRENCE *et al.*, 2008). Na rotina veterinária, os cães de raças grandes e gigantes, são os mais acometidos (ALLAN, 2002).

Osteoartrose define-se por um processo degenerativo da superfície articular de evolução crônica, podendo estar ligada a anormalidades além da cartilagem articular, osso subcondral e estruturas periarticulares, o processo degenerativo contínuo afetará essas estruturas levando posteriormente ao aparecimento de osteófitos (COIMBRA *et al.*, 2002; PASTORE *et al.*, 2013).

A osteoartrose do quadril é um processo que atinge inicialmente a cartilagem articular e depois o osso sub-condral, e é caracterizada pela presença de dor, limites funcionais e diminuição no espaço articular. Para o diagnóstico, o exame complementar é a radiografia (VANNI *et al.*, 2008; BENNEL e HINMAN, 2011).

Sua origem pode ser classificada como idiopática, tendo como fatores predisponentes: idade, genética, fatores nutricionais, obesidade, crescimento rápido, microtraumas e ações imunológicas ligadas a reações inflamatórias (GUCCIONE, 1994; REZENDE E CAMPOS, 2013).

Quando se inicia um processo inflamatório, ocorre a ação de citocinas inflamatórias, as mesmas ativam enzimas conhecidas como metaloproteinases, responsáveis por um processo de degradação da matriz cartilaginosa, as quais possuem fatores inibitórios, porém, no processo de degeneração da osteoartrose, essas enzimas se mantêm em maior quantidade que seus inibidores, essa ação ocorre sobre a matriz extracelular, impedindo a mesma de produzir fatores responsáveis pela manutenção e reparação da cartilagem (GOLDRING, 2000).

Além das metaloproteinases, os anticorpos, os proteoglicanos e a diminuição da densidade da matriz extracelular também são fatores que auxiliam na degradação da cartilagem e na sua não reparação. Outro fator fisiológico da

articulação sinovial, como a baixa replicação celular em um indivíduo adulto, também colabora para o processo degenerativo (GOLDRING, 2000).

Os principais sintomas dessa doença são: presença de dor, devido ao constante contato entre as superfícies osseas, e claudicação progressiva (BERGER e MEALS, 2015), em casos mais graves há também a presença de incapacidade funcional, atrofia muscular, diminuição de mobilidade articular e fraqueza muscular (GUCCIONE, 1994).

A radiografia simples pode ser utilizada para um diagnóstico preciso, porém torna-se indispensável o conhecimento de todas as estruturas que envolvem uma articulação saudável para diferenciar e identificar as alterações presentes devido à osteoartrose. Pode-se constatar a presença de osteófitos, diminuição do espaço articular, esclerose do osso subcondral e presença de remodelação óssea, sendo esses os sinais mais comuns apresentados pela doença (CARRIG, 1997).

A análise do líquido sinovial de uma articulação acometida pela osteoartrose, pouco se diferencia de uma articulação saudável, apresentando uma quantidade baixa ou nula de células inflamatórias, ainda que se possa encontrar um aumento do volume com uma diminuição da viscosidade do líquido. A contagem de leucócitos totais pode apresentar valores normais ou levemente aumentados, raramente excedendo 5.000 células/ μ l, sendo que os linfócitos correspondem a cerca de 70% a 80% das células presentes, e os neutrófilos 12%. Logo, o uso dessa técnica é importante para definir se há característica inflamatória ou não na articulação (TATARUNAS *et al.*, 2004).

1.4. Líquido Sinovial

O líquido sinovial presente nas articulações e bainhas tendíneas, pode ser considerado um fluido especializado, demonstrando alterações no tecido sinovial ou no metabolismo intra-articular (BARNABÉ *et al.*, 2005).

O líquido sinovial é formado a partir de um filtrado plasmático, de cor transparente ou amarelo palha de alta viscosidade, devido ele ser constituído de ácido hialurônico, glicosaminoglicanos e células sinoviais. As principais funções do líquido sinovial são nutrição e lubrificação da cartilagem articular, além da eliminação de resíduos do metabolismo dos condrócitos (WIETHUCHTER *et al.*, 2018).

As informações obtidas a partir da análise do líquido sinovial podem indicar a natureza e extensão das lesões intra-articulares, auxiliando no diagnóstico juntamente com outras ferramentas de exames complementares, facilitando estabelecimento de um prognóstico mais preciso e um tratamento eficaz (BARNABÉ *et al.*, 2005).

As características do líquido sinovial podem ser alteradas por quaisquer lesões na membrana sinovial ou na cartilagem articular (BUCKWALTER *et al.*, 2005; RENNER, 2010).

1.5. Processo inflamatório

A inflamação é a resposta do corpo ao dano tecidual, sendo que a princípio, o organismo procura manter as funções normais do tecido, porém com o decorrer do tempo, efeitos deletérios podem ocorrer (KNYCH, 2017). Contusões, tendinites, infecções respiratórias, doenças autoimunes e algumas afecções ortopédicas estão entre as diversas afecções em que o processo inflamatório pode estar envolvido. É um mecanismo de defesa do organismo para eliminar a causa inicial da lesão celular, que pode ser provocada por um patógeno ou por ação de agentes físicos (COUTINHO *et al.*, 2009;).

A área inflamada exibe características marcantes na sua fase aguda como edema, vermelhidão, aumento de temperatura local e dor, podendo ainda ter alteração da sua função. Sua evolução implica na inflamação crônica, caso o patógeno ou a substância nociva persistirem, ou a resposta do organismo não for suficiente (LUENGO, 2005).

A reação inflamatória consiste de uma reação inata, que ocorre na fase inicial e independe do tipo da agressão, e de uma resposta imune específica, na qual depende de fatores associados ao agente agressor e ao próprio tecido agredido (COUTINHO *et al.*, 2009).

A reação inata ocorre no interior dos tecidos, caracterizada por eventos vasculares e eventos celulares. Os eventos vasculares caracterizam-se por alterações no calibre e na permeabilidade vascular (HANADA e YOSHIMURA, 2002; LUENGO, 2005). Estes eventos são provocados por mediadores, produzidos a partir do plasma e das células que ampliam a resposta inflamatória e influenciam sua

evolução (HANADA E YOSHIMURA, 2002; COUTINHO *et al.*, 2009). Já nos eventos celulares, os macrófagos, que estão presentes nos tecidos, e os leucócitos circulantes, saem do endotélio vascular em direção ao local da lesão, fagocitam o agente agressor e degradam os tecidos lesionados (CRUVINEL *et al.*, 2010).

A resposta imune específica depende da ativação de células especializadas, os linfócitos, que migram para a área inflamada através de sua interação com as moléculas de adesão e as células endoteliais. As principais características da resposta específica são: especificidade e diversidade de reconhecimento, memória, especialização de resposta, autolimitação e tolerância a componentes do próprio organismo (COUTINHO *et al.*, 2009; CRUVINEL *et al.*, 2010).

A exposição das células aos patógenos e a lesão tecidual resultam na produção e na liberação de diversos mediadores químicos. Dentre os mediadores da inflamação, encontram-se citocinas inflamatórias, histamina, neuropeptídeos, óxido nítrico, metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) e fator de ativação plaquetária. O ácido araquidônico é liberado através de mediadores como fosfolipídios e estímulos químicos, a partir da ativação da fosfolipase A2 na membrana celular (CRUVINEL *et al.*, 2010).

O ácido araquidônico livre pode ser metabolizado por duas vias enzimáticas distintas, a via das ciclo-oxigenases (COX), que desencadeia a biossíntese das prostaglandinas e tromboxanos, está envolvida no processo de inflamação, e pela via das lipo-oxigenases (LOX), originando a biossíntese de leucotrienos (LT), lipoxinas e outros compostos (CARVALHO *et al.*, 2004; BOTTING, 2006).

A via das ciclo-oxigenases (COX) pode seguir três caminhos: ciclo-oxigenases1 (COX-1), ciclo-oxigenases2 (COX-2) e ciclo-oxigenases3 (COX-3), sendo as principais e bem elucidadas pelos estudos atuais COX-1 e COX-2. A enzima COX-1 está presente em aproximadamente todas as células e tem efeitos benéficos no trato gastrointestinal e renal. (COX, 2006; BORSOOK *et al.*, 2013). Por outro lado, a enzima COX-2 está presente em tecido nervoso, ossos, rins, articulações, e sua redução causa efeitos benéficos como redução da dor, edema e hipertermia local ou generalizada, acredita-se que o uso de fármacos COX-2 seletivos tenha melhores efeitos terapêuticos e mantém importantes funções homeostáticas (OLSON, 2016).

Os tromboxanos mais importantes na inflamação são: PGE₂, PGD₂, PGF₂ α , PGI₂, prostaciclina e TXA₂ (CRUVINEL *et al.*, 2010). A prostaciclina possui uma ação vasodilatadora, além de potencializar os efeitos quimiotáticos e aumentar a permeabilidade de outros mediadores. As prostaglandinas PGD₂, PGE₂ e PGF₂ α são vasodilatadoras. Já os leucotrienos C₄, D₄ e E₄ (LC₄, LD₄ e LE₄) aumentam a permeabilidade vascular. O leucotrieno B₄, exerce uma potente atividade quimiotática para leucócitos, monócitos e eosinófilos, promovendo a migração destas células para o local da lesão. Os leucotrienos ativam as células da série branca, quando instalados no sítio inflamatório, promovendo a de-granulação e a produção de superóxidos, que aumentam os danos teciduais (SAUTEBIN, 2000; CARVALHO *et al.*, 2004; BOTTING, 2006).

1.6. Velocidade de Hemossedimentação

O teste de velocidade de hemossedimentação (VHS) foi idealizado na Alemanha em 1918 por Robin Fahreus, observando o processo em que eritrócitos se depositavam no fundo do tubo como uma pilha de moedas (BUCK, 2011) e utilizado primeiramente com o auxílio no diagnóstico de gestação (DOS SANTOS, 2000). É um teste simples e de baixo custo, que vem sendo usado a mais de meio século como marcador da resposta inflamatória (HACHEM, 2010). No entanto é considerado um marcador inespecífico da doença inflamatória, infecciosa e neoplásica (EPAMINONDAS, 2015).

A técnica para realização do ensaio foi descrita por Alf Westergreen em 1924, e é ainda largamente utilizada para realização do exame, apesar de terem ocorrido pequenas modificações ao passar dos anos, a velocidade de hemossedimentação consiste na medida da altura de camada de hemácias sedimentadas em um tubo de vidro graduado em um determinado período de tempo (COLLARES, 2004).

Os valores encontrados no teste de VHS são maiores durante uma inflamação aguda, devido a mediadores inflamatórios como proteína C reativa, TNF, IL, que são produzidos pelos hepatócitos e interferem no tempo de sedimentação fazendo que ocorra de forma mais rápida, isso ocorre pois, devido às alterações nas proteínas plasmáticas que as tornam mais pesadas e mais propensas a sedimentar mais rapidamente, os eritrócitos formam grupos agregados de forma semelhante a

colunas de *rouleaux*, ao contrário de pacientes saudáveis onde as hemácias não formam *rouleaux* (BUCK, 2011).

Os valores de velocidade hemossedimentação para cães saudáveis devem ser menores que 10mm/h (JAIN, 1975).

1.7. Interleucina 6 (IL-6)

A interleucina 6 (IL-6) é considerada em cães uma das principais citocinas pró-inflamatórias (SILVA, 2016a), responsável pelo componente da resposta hepática, resultando na síntese de proteínas de fase aguda e proteína C reativa, e ativação de citocinas imunossupressoras, de função regulatória, como a IL-10 (SILVEIRA, 2018), influenciando em respostas imunes a antígenos específicos e reações inflamatórias, tendo grande participação como mediador da fase aguda da inflamação (PAVAN, 2016). Na doença articular além do caráter inflamatório a IL-6 acompanhada das demais citocinas e metaloproteinases, ocasiona degradação da cartilagem, a proteína C reativa, é amplamente expressa durante reações inflamatórias, ocasionando efeitos indesejáveis em vários órgãos (GOMES, 2009).

A síntese da IL-6 ocorre por meio de fagócitos mononucleares, células do endotélio vascular, fibroblastos, células T ativadas, eosinófilos, mastócitos e queratinócitos, sensíveis a presença de microrganismos e estímulos gerados por citocinas como interleucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF) (DE ALMEIDA, 2006).

Em pacientes humanos de idade avançada (idosos), ocorre elevação dos valores séricos de IL-6, devido em partes a doenças que tendem a ser mais frequentes e também ao decréscimo de testosterona e estrógeno (KAMIMURA, 2003).

As pesquisas com IL-6 abrangem estudos oncológicos avaliando níveis de IL-6 comparados a malignidade do tecido neoplásico (MARTINS, 2015), odontológicos e endócrinos aferindo níveis de IL-6 em diferentes situações hormonais e avaliação da inflamação e reparo do tecido ósseo oral (SILVA, 2016b).

PROJETO DA DISSERTAÇÃO

ESTUDO CLÍNICO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM CÃES POR ANÁLISE RADIOGRÁFICA, MENSURAÇÃO DE VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO E INTERLEUCINA-6

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar marcador de inflamação em cães com diferentes graus de displasia coxofemoral e correlacioná-los às alterações clínicas, radiográficas e a velocidade de hemossedimentação.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Análise hematológica dos cães e do líquido sinovial da articulação coxofemoral dos mesmos.

Quantificar a IL-6 no líquido sinovial.

Quantificar a velocidade de hemossedimentação.

Classificar o grau da displasia coxofemoral radiograficamente.

Correlação dos achados

Analisar resultados dos testes executados, realizando comparação entre os dados obtidos dos grupos teste e controle, avaliando se existe ou não correlação entre eles.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia adotada no presente trabalho foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA do Centro Universitário Ingá (UNINGÁ) – Maringá (n. PM04/2017).

Foram avaliados um total de 12 cães, 8 com distúrbio de displasia coxofemoral denominado grupo Teste e 4 animais saudáveis, livres de qualquer enfermidade, de raça, peso e idade variados, denominado Grupo Controle.

Os animais foram avaliados, de acordo com a escala analógica para a classificação da claudicação (HUDSON, 2004) (QUADRO 1).

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

QUADRO 1. Escala analógica de claudicação à deambulação, utilizada para classificação dos animais (HUDSON, 2004).

Todos os animais passaram por anamnese, exame físico geral e exame ortopédico segundo Nogueira; Tudury (2002), em seguida foram encaminhados para exame radiográfico da articulação coxofemoral (figura 1) e classificados para grau de displasia coxofemoral conforme o quadro 2.

O exame radiográfico foi realizado na posição ventro-dorsal com os membros posteriores bem estendidos e rotacionados internamente de modo que a patela ficasse sobreposta medianamente em relação ao plano sagital do fêmur. Os fêmures deviam ficar paralelos entre si e em relação à coluna vertebral e a pélvis em simetria.



FIGURA 1. Foto de imagem radiográfica de cão realizada em decúbito dorsal evidenciando displasia coxofemoral bilateral. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

GRAU DE AVALIAÇÃO		ACHADOS RADIOGRAFICOS
1	Excelente	A cabeça femoral se encaixa no acetábulo com cobertura total do acetábulo sobre a cabeça femoral, com espaço articular mínimo.
2	Bom	A cabeça femoral se encaixa bem no acetábulo e há boa cobertura, porém um pouco menos do que a classificação excelente.
3	Regular	Há uma ligeira incongruência articular entre a cabeça do fêmur e o acetábulo, com um ligeiro desvio da superfície de rolamento na borda acetabular dorsal, aparentando ser um pouco superficial.
4	Limite	Há uma incongruência articular, sem presença de mudanças artríticas.
5	Médio	Desvio mínimo do normal com apenas leve achatamento da cabeça femoral e menor subluxação.
6	Moderado	Desvio óbvio do normal com evidência de um acetábulo raso, cabeça femoral achatada, pobre congruência articular e, em alguns casos, subluxação com marcadas mudanças da cabeça e colo femoral.
7	Severo	Deslocamento completo da articulação coxofemoral e severo achatamento do acetábulo e cabeça femoral.

QUADRO 2. Escala de Classificação dos graus de Displasia Coxofemoral classificado segundo Orthopedic Foundation for Animals. Utilizada para graduação da displasia coxofemoral (OFA, 2018).

Foi realizado hemograma e velocidade de hemossedimentação de todos os animais. As análises hematológicas foram realizadas imediatamente antes do início das coletas de líquido sinovial. Toda a avaliação do animal assim como a realização dos tratamentos foi executada pelo mesmo médico veterinário.

3.1. Critérios de Inclusão

Foram aceitos animais de diferentes raças e ambos os sexos.

Animais que apresentaram diagnóstico de displasia coxofemoral, com alterações radiográficas na articulação coxofemoral.

3.2. Critérios de Exclusão

Fêmeas gestantes ou em estro.

Animais que estiveram utilizando medicação analgésica e antiinflamatória nos últimos 15 dias.

Apresentaram outra afecção de caráter sistêmico inflamatório/infeccioso.

3.3. Coleta do líquido sinovial

A coleta do líquido foi realizada em jejum alimentar e hídrico de seis horas, os animais foram sedados ou anestesiados, pois vários deles foram submetidos a procedimentos cirúrgicos após a coleta. Após tricotomia e antissepsia da região, foram coletadas amostras de até 0,5ml do líquido sinovial, através da técnica descrita por Piermattei (2006) para articulação coxofemoral: sendo realizada abdução e rotação medial do membro, a agulha deve ser introduzida dorsalmente ao trocânter maior, fazendo um ângulo ventral e caudal, ou seja, imediatamente cranioproximal ao trocânter e direcionada delicadamente ventral e caudalmente (PIERMATTEI, 2006) (figura 2). A amostra foi acondicionada em tubos eppendorfs e armazenada a -80°C para posterior análise laboratorial com testes ELISA CANINE IL6 ELISA KIT – THERMO SCIENTIFIC EUA/CANADA (específico para espécie canina).



FIGURA 2. Animal em decúbito lateral esquerdo em plano anestésico com membro pélvico em abdução (flecha), cateter 18G sendo inserido crânio-dorsal ao trocânter maior do fêmur (flecha), para que possa ultrapassar pele, subcutâneo, musculatura e cápsula articular para coleta do líquido sinovial, aspirado com seringa 20 ml. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

3.4. Dosagem da Interleucina-6

Foi utilizado o método de Elisa para dosagem de IL-6 de acordo com as orientações do fabricante (canine IL6 elisa kit – thermo scientific EUA/Canada). Brevemente, amostras de líquido sinovial foram adicionadas à uma placa previamente sensibilizada com anticorpos anti IL-6, seguindo uma incubação de 2 horas e meia. Após lavagem, foi adicionado à placa o anticorpo biotinado, e encubado por mais 1 hora. Em seguida a placa foi novamente lavada e houve a adição da estreptavidina com incubação de 45 minutos. Após, a placa ser novamente lavada, foi adicionado o substrato da enzima e encubada no escuro por 30 minutos. Após a adição da solução de parada, a leitura foi feita em espectrofotometro a 450/630 nanometros. A quantificação de IL-6 foi baseada em uma curva padrão de IL-6 que variou de 25 n/ml (pg/ug) a 0,102 (mesma unidade). Todas as amostras foram feitas em duplicata (exceto A1, A7 e A8), e seus resultados expressos em médias. Amostras de animais saudáveis foram utilizadas como controle. O resultado do teste está revelado na tabela 3.

3.5. Exame laboratorial (hematológico)

Os cães foram submetidos à punção venosa (veia jugular) usando seringas plásticas e agulhas descartáveis. Foram colhidos 10 ml de sangue, distribuídos em um tubo com EDTA, e outro com gel ativador de coágulo. O hemograma e teste de velocidade de hemossedimentação foram realizados a partir do tubo com EDTA, no momento da coleta.

3.6. Análise Estatística

Os resultados estatísticos foram obtidos com o auxílio do Software SPSS (Statistical Package for Social Sciences), além das análises descritivas, foi realizado o coeficiente de Pearson com teste de significância ($p \leq 0,05$ e $0 \leq 0,01$).

4. RESULTADOS

Dentre os oito cães presentes no estudo afetados por displasia coxofemoral, a maioria se enquadra na classificação de raças grandes e gigantes. Entre esses animais, um (12.5%) apresentava grau de displasia classificado como limite, três (37.5%) apresentavam grau de displasia moderado e quatro (50%) grau de displasia severo. O grau de claudicação 1 foi observado em dois animais, grau 2 acometeu dois, grau 3 estava presente em dois e grau 4 foi observado em dois animais, ou seja 25% dos animais para cada grau de claudicação.

A velocidade de hemossedimentação apresentou valores normais dentro de uma hora de análise para seis animais, sendo que dois destes valores estavam superiores ao valor de referência, sugerindo um processo inflamatório.

A idade variou de cinco meses a 10 anos, foram estudados cinco cães machos (62.5%) e três fêmeas (37.5%). Estes dados podem ser observados na tabela 1.

Dentre os animais do grupo controle não acometidos por qualquer enfermidade, três ou 60% dos animais são sem raça definida e um animal (20%) da raça Border Collie. Sendo que todos apresentavam avaliação excelente da articulação coxofemoral com grau 0 de claudicação. Foram avaliados 3 animais fêmeas (75%) e um macho (25%). Todos apresentaram velocidade de hemossedimentação dentro dos valores de referência, as idades variaram de 1 a 4 anos. Estes valores podem ser observados na tabela 2.

Seis animais estudados (75%) eram de idade adulta, os demais animais (25%) ainda em fase de desenvolvimento. Dentre os animais classificados como grau severo de displasia coxofemoral pela avaliação radiográfica, três (75%) eram de idade adulta e apenas um (25%) em fase de desenvolvimento. Dos animais com grau de displasia moderado, três animais (100%) eram adultos e o animal com classificação limite para displasia encontrava-se em fase de desenvolvimento osteomuscular. Mostrando que com avanço da doença, sinais de osteoartrose tendem a ser mais frequentes.

O líquido sinovial de ambos os grupos foram colhidos e enviados juntamente com CANINE IL6 ELISA KIT – THERMO SCIENTIFIC, específicos espécie canina, armazenados a -80°, após, foi realizada análise no departamento de farmacologia, laboratório de inflamação da Universidade Estadual de Maringá.

Os resultados estatísticos foram obtidos a partir do software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Houve correlação significativa ao nível de 12% de erro entre a quantidade de interleucina-6 (ng/ml) e o peso do animal. Pode ser observado que quanto maior o grau de displasia, menor é o VHS (com nível de erro grande) e quanto maior o grau de displasia, maior é o peso.

Não houve diferença em coisa alguma, dentre os 8 animais do grupo teste, considerando o sexo. Os machos apresentaram um maior valor de VHS.

GRUPO TESTE							
Animal	Grau Displasia	Claudicação	VHS 60'/90'/120'	Raça	Sexo	Peso	Idade/ Meses
A 1	Severo (7)	2	1mm/4mm/10mm	Sem raça definida	Macho	14kg	84
A 3	Moderado (6)	2	0mm/0mm/1mm	Golden Retriever	Fêmea	43kg	48
A 4	Severo (7)	1	3mm/6mm/8mm	Labrador Retriever	Fêmea	50kg	120
A 5	Moderado (6)	3	15mm/25mm/33mm	Golden Retriever	Macho	43kg	42
A 6	Severo (7)	4	1mm/1mm/1mm	Golden Retriever	Macho	45kg	10
A 7	Severo (7)	3	0mm/1mm/1mm	ChowChow	Fêmea	20kg	108
A 8	Moderado (6)	1	4mm/5mm/5mm	Pastor Alemão	Macho	25kg	84
A 9	Limite (4)	4	10/12mm/12mm	Boiadeiro de Berner	Macho	4kg	5

TABELA 3. Resultados da avaliação clínica, radiográfica e hematológica de animais com displasia coxofemoral, sendo graduado displasia de acordo com quadro 2, claudicação de acordo com quadro 1 e VHS sendo 60'=60 minutos, 90'=90 minutos e 120'=120 minutos. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

GRUPO CONTROLE					
Animal	Grau Displasia	Claudicação	VHS 60'/90'/120'	Peso	Idade/ Meses
C 1	Excelente	AUSENTE	0/0mm/1mm	14 kg	36
C 2	Excelente	AUSENTE	0/1mm/2mm	24 kg	18
C 3	Excelente	AUSENTE	0/1mm/1mm	20 kg	18
C 4	Excelente	AUSENTE	0/1mm/1mm	20Kg	48

TABELA 4. Resultados da avaliação clínica, radiográfica e hematológica de animais sem displasia coxofemoral, sendo graduado para displasia de acordo com quadro 2, claudicação de acordo com quadro 1 e VHS sendo 60'=60 minutos, 90'=90 minutos e 120'=120 minutos. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

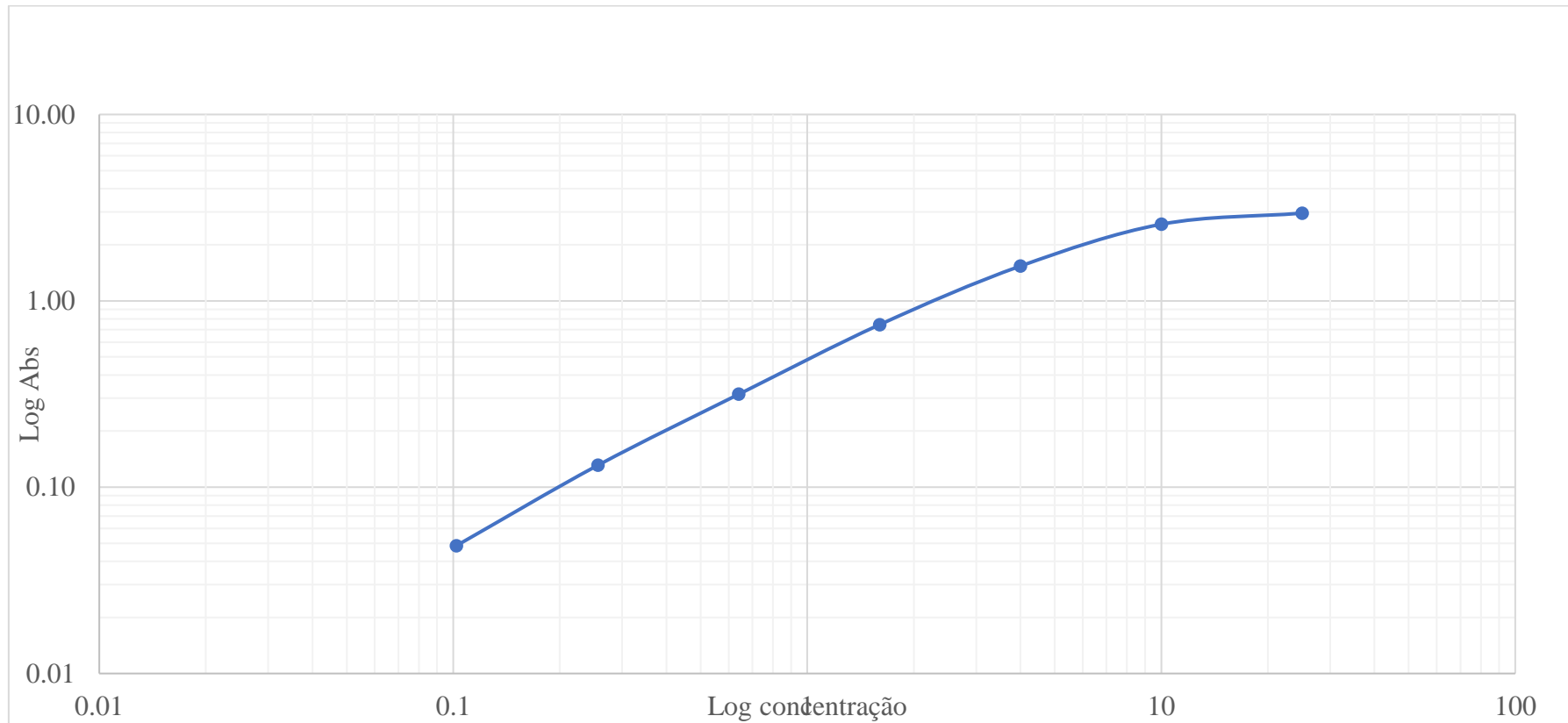
	AMOSTRAS	MÉDIA	CORREÇÃO COM O BRANCO	RESULTADO (ng/ml)
GRUPO CONTROLE IL-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL	C1	0,07	0,03	<0,102
	C2	0,08	0,04	<0,102
	C3	0,08	0,04	<0,102
	C4	0,07	0,03	<0,102
GRUPO TESTE IL-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL	A1	0,08	0,04	<0,102
	A3	0,09	0,06	0,13
	A4	0,30	0,27	0,55
	A5	0,27	0,23	0,47
	A6	0,07	0,03	<0,102
	A7	0,13	0,09	0,17
	A8	0,09	0,05	0,11
	A9	0,07	0,03	<0,102

TABELA 3. Resultados da análise de interleucina-6 através do método de Elisa de acordo com as orientações do fabricante (canine IL6 elisa kit – thermo scientific EUA/Canada) dos cães do grupo controle e do grupo teste. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

Tabulação da curva padrão								
Concentração (ng/mL)	25	10	4	1,6	0,64	0,256	0,102	0
Média	2,99	2,61	1,57	0,78	0,35	0,17	0,09	0,04
Desvio padrão	0,20	0,10	0,10	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
CV	6,76	3,90	6,29	0,18	3,01	0,42	0,00	9,43
Correção com o branco	2,95	2,58	1,54	0,74	0,32	0,13	0,05	0,00

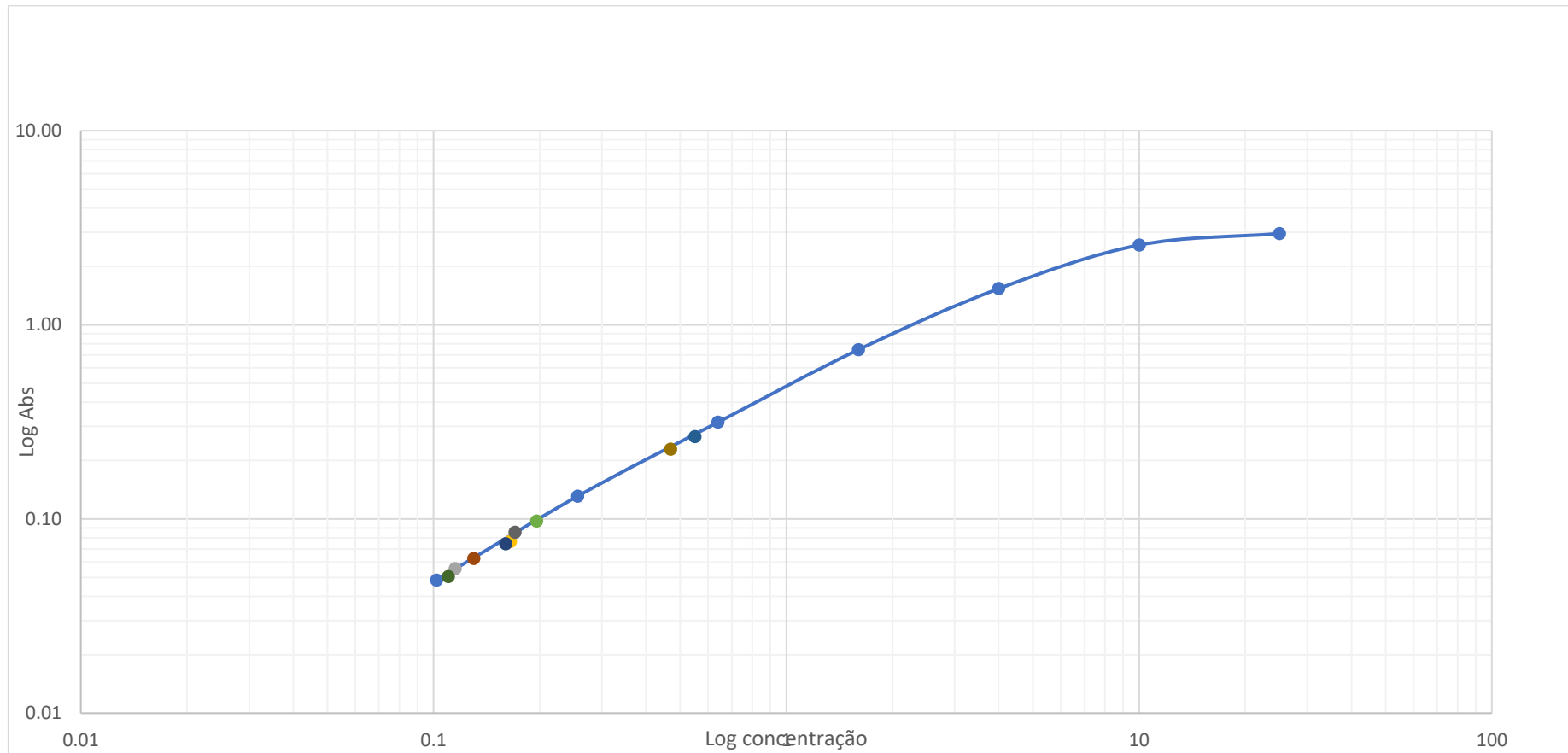
TABELA 4. Tabulação da curva padrão de IL-6. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

GRÁFICO 1. Gráfico representando a curva padrão de IL-6.



IL-6: Interleucina-6; Abs: Absorbância; Log: Logarítimo. Marcadores correspondem às concentrações da curva padrão. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

GRÁFICO 2. Gráfico representando a curva padrão de IL-6 com as concentrações em ng/ml de interleucina-6 obtidas no líquido sinovial dos cães do grupo teste e controle.



0

IL-6: Interleucina-6; Abs: Absorbância; Log: Logarítimo. Marcadores correspondem às concentrações de interleucina-6 em ng/ml. Fonte: Acervo pessoal, 2020.

5. DISCUSSÃO

A Displasia coxofemoral é um distúrbio frequente em cães, sendo uma das principais causas de osteoartrite coxofemoral (DAMASCENO, 2015), de ocorrência em geral bilateral, resultado de alterações anatômicas na articulação coxofemoral durante o desenvolvimento do animal (DEGREGORI, 2018), classificada como uma doença do desenvolvimento (KAPATKIN *et al.*, 2002; SMITH, 2004).

Além dos fatores ambientais e nutricionais que podem exacerbar o quadro da doença (FRANÇA, 2015) seu início está ligado à herança genética (STORTTI, 2017) gerando no crescimento do animal uma disparidade entre a massa muscular primária e a estrutura óssea exacerbada (PIRES, 2017), desta forma, uma musculatura fraca não possui força suficiente para manter congruência articular (HYPPOLITO, 2017). Raças de porte grande ou gigante são mais predispostas à displasia coxofemoral devido ao rápido crescimento ósseo. (OLIVEIRA, 2018)

Em estudo retrospectivo realizado por Oliveira (2018), os animais de porte grande ou gigante foram responsáveis pela maior parcela de animais, onde foram observados, 19,1% Rottweiler, 17,6% Pastor Alemão e 14,7% Labrador Retriever. Em um estudo em Jaboticabal/SP realizado por Melo (2013), foi observada a prevalência de cães das raças Rottweiler (28,19%), Pastor Alemão (19,69%) e SRD (13,13%).

No grupo teste do presente estudo, seis animais são de raças grandes ou gigantes caracterizando 75% da população estudada, entre eles três Golden Retriever (37,5%), um Labrador Retriever (12,5%), um Pastor Alemão (12,5%) e um Boiadeiro de Berner (12,5%), os 25% (dois animais) são de porte médio sendo um Chow Chow (12,5%) e um animal sem raça definida (12,5%), o que confirma a prevalência da doença em animais de médio e grande porte.

Barros e colaboradores (2008) demonstraram que em cães da raça Pastor Alemão, a prevalência dessa doença foi de 89,4%. No presente estudo, obtivemos apenas um Pastor Alemão com displasia coxofemoral, correspondendo à 12,5% do grupo teste. A raça com maior número de diagnóstico para a doença foi Golden Retriever, correspondendo à 37,5% dos animais do grupo teste.

Demeulemeester (2016) expõe que os sinais clínicos podem variar de acordo com a idade e a fase da doença que o animal se encontra, sendo que em cães jovens o sinal de dor e anormalidades da marcha estão relacionados à frouxidão articular e subsequente tensão sobre os tecidos moles circunjacentes, que progride para osteoartrite em animais idosos.

Resultados estatísticos do trabalho realizado, mostraram que animais mais jovens apresentam maior grau de claudicação do que animais idosos, porém, o grau de claudicação comparado com o grau de displasia coxofemoral não apresenta correlações significativas, sendo um sinal clínico individual: animal com avaliação radiográfica severo para a displasia coxofemoral (A4) apresentou grau de claudicação 1; outro animal (A9) com avaliação radiográfica limite para a doença apresentou grau de claudicação 4.

O valor de VHS acima dos valores de referência em uma hora, foram observados nos animais 9 e 5 com grau de claudicação 4 e 3, avaliação radiográfica limite e moderada respectivamente, não mostrando relação entre avaliação radiográfica e alterações nos valores de VHS, pois animais (A1, A4, A6 e A7) com avaliação radiográfica severa não mostraram alterações nesses valores. Demonstrando que a inflamação diagnosticada através do VHS, seja uma causadora maior de dor e claudicação, comparado à alterações na anatomia articular.

Diante disso, ainda podemos afirmar que com o decorrer do tempo, a doença não progride para osteoartrite, e sim para osteoartrose, pois entre os quatro animais diagnosticados com grau de displasia severo, 75% deles eram adultos, com no mínimo sete anos de idade e nenhum destes animais apresentou alteração nos valores de VHS, sugerindo que naquele momento este animal apresentava somente osteoartrose, sem presença de quadro inflamatório, não caracterizando uma osteoartrite.

Os valores de VHS fora dos parâmetros de referência para animal saudável foram observados em dois dos animais com os piores graus de claudicação do estudo. No entanto, nenhum animal com grau de displasia severo teve teste de VHS >10mm/h, sugerindo que apesar de grave alteração radiográfica, esses animais não

possuem processo inflamatório ativo, mas, a IL-6 em dois animais se mostrou alterada.

Estudos estatísticos mostram que 70% dos animais radiograficamente afetados não apresentam sintomas e somente 30% necessitam de algum tipo de tratamento. Os animais doentes podem apresentar claudicação uni ou bilateral, dorso arqueado, peso corporal deslocado em direção aos membros anteriores, com rotação lateral desses membros e andar bamboleante (GEROSA, 1995).

É possível afirmar que o grau de displasia coxofemoral confirmado pela imagem radiográfica nem sempre será correspondente aos sinais clínicos, tendo em vista que animais classificados com grau de displasia severo podem apresentar uma claudicação grau um (intermitente) como mostra o animal A1; e animais com grau de claudicação quatro (intensa) podem apresentar grau de displasia limite, como o animal A9, não sendo possível correlacionar o grau de displasia com o grau de claudicação.

Nos cães, a degeneração articular (osteoartrose) se inicia por volta dos seis anos de idade, naqueles sem dietas específicas ou restritivas (SMITH *et al.*, 2006). No presente estudo, dentre os oito animais avaliados do grupo teste, sete deles já apresentavam degenerações articulares, com uma média de idade de 5,9 anos. Dentre eles, apenas um animal estava em fase de desenvolvimento osteomuscular (dez meses de idade).

Desde que foram encontradas quantidades elevadas de IL-6 no líquido sinovial de pacientes com artrite reumatóide (AR), várias evidências sugerem o envolvimento da IL-6 em doenças auto-imunes, doenças inflamatórias crônicas proliferativas, e neoplasias de células B, incluindo o lúpus eritematoso sistêmico (ISHIHARA & HIRANO, 2002). No estudo realizado, dentre os oito animais do grupo teste, cinco obtiveram níveis de interleucina-6 elevados no líquido sinovial da articulação coxofemoral, revelando que os animais com displasia coxofemoral tem grande probabilidade de terem o nível dessa citocina aumentado.

A expressão local de IL-6 pode estimular o recrutamento de leucócitos, promover a maturação e ativação osteoclástica, suprimir condrócitos e estimular a

proliferação sinovial, culminando na lesão articular (FLANNERY et al., 2000; LIPSKY, 2008). Estudos focando o tratamento da AR vem pesquisando novos medicamentos que agem como anticorpos monoclonais inibindo o receptor da IL-6 e, por consequência, retardando a progressão dessa lesão articular (NISHIMOTO, 2009).

Um estudo realizado por Neumann e colaboradores (2012), evidenciou que a IL-6 foi um marcador inflamatório mensurável em cães com doença hepática e que pode ser possível a diferenciação entre a fase aguda e crônica da doença através deste marcador. Porém, ainda não foram realizados estudos que comprovassem esta mensuração para a displasia coxofemoral.

Foi sugerido no estudo realizado por Hay e colaboradores (1997), que a IL-6 pode estar envolvida na patogênese da osteoartrose juntamente com o fator de necrose tumoral. No presente estudo, dois animais do grupo teste que foram avaliados como grau de displasia severa e com possível alto grau de osteoartrose, não tiveram alterações significativas no valor de IL-6 no líquido sinovial.

6. CONCLUSÃO

Encontrou-se correlação entre a idade dos animais e o grau de claudicação, sendo que quanto mais velho o animal, menor o grau de claudicação, e quanto mais jovem o animal, maior o grau de claudicação. Também há correlação entre o valor do VHS e o grau de displasia, sendo que quanto maior o grau de displasia, menor será o VHS, sugerindo que quando o animal desenvolve osteoartrose, o mesmo não possui mais inflamação na articulação.

Não foram encontradas correlações entre a quantidade de interleucina-6 e grau de displasia ou grau de claudicação dos animais estudados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, G. Radiographic signs of joint disease. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**, p. 130-150, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RADIOLOGIA VETERINÁRIA. **Normas da F.C.I. para avaliação da displasia coxofemoral.** Disponível em: <<http://www.abrv.com.br/colégio>> Acesso em 17/09/2016.

BARNABE, P.A.; CATTELAN, J.W.; CADIOLI, F.A.; GODOY, R.F. Características físico-químicas e citológicas do líquido sinovial da bainha tendínea digital de eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 288-294, 2005.

BARROS, G. S.; VIEIRA, G. L. T.; VIANNA, L. R.; TÔRRES, R. C. S.. 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.

BERGER, A J.; MEALS, R.A. Management of osteoarthrosis of the thumb joints. **The Journal of hand surgery**, v. 40, n. 4, p. 843-850, 2015.

BORSOOK, D.; KUSSMAN, B.D.; GEORGE, E.; BECERRA, L.R.; BURKE, D.W. Surgically-induced neuropathic pain (SNPP): understanding the perioperative process. **Annals of surgery**, v. 257, n. 3, p. 403, 2013.

BOTTING, R. M. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, Issues 1–2, p. 208–219, 2006.

BOUND, N.J.; UPJOHN, M.J.; JACKSON, S.; BAINES, S.J. Assessment of veterinary practitioners in the British Isles' approaches towards the management of canine osteoarthritis. **Veterinary Record-English Edition**, v. 168, n. 21, p. 563, 2011.

BUCK, A.; VELASQUEZ, P.G.; DÜSMAN, E. **Análise comparativa das diferentes diluições para avaliação da velocidade de hemossedimentação-VHS**. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, v. 15, n. 3, 2011.

BUCKWALTER, J.A.; MANKIN, H. J.; GRODZINSKY, A.J. **Cartilagem articular e osteoartrite**. Instr Course Lect. v. 54, p. 465-80, 2005.

CARRIG, COLIN B. Diagnostic imaging of osteoarthritis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 4, p. 777-814, 1997.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Rev. Bras. Anesthesiol.** 1.54 n. 3, 2004.

COIMBRA, I.B.; PASTOR, E.H.; GREVE, J.M.D.; PUCCILNELLI, M.L.C.; FULLER, R.; CAVALCANTI, F.S.; MACIEL, F.M.B.; HONDA, E. Consenso brasileiro para o tratamento da osteoartrite (artrose). **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 42, n. 6, p. 371-374, 2002.

COLLARES, G.B.; VIDIGAL, P.G. Recomendações para o uso da velocidade de hemossedimentação. **Revista Médica de Minas Gerais** 2004;14(1):52-7

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Rev. Virtual Quim.** v. 1, n. 3, p. 241-256. 2009.

COX, J.J.; REIMANN, F.; NICHOLAS, A.K.; THORNTON, G.; ROBERTS, E.; SPRINGELL, K.; KARBANI, G.; JAFRI, H.; MANNAN, J.; RAASHID, Y.; AL-GAZALI, L.; HAMAMY, H.; VALENTE, E.M.; GORMAN, S.; WILLIAMS, R.; MCHALE, D.P.; WOOD, J.N.; GRIBBLE, F.M.; WOODS, C.G. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 894-898, 2006.

CRUVINEL, W.M.; JÚNIOR, D.M.; ARAÚJO, J.A.P.; CATELAN, T.T.T.; SOUZA, A.W.S.; DA SILVA, N.P.; ANDRADE, L.E.C. Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev Bras Reumatol.** v. 50, n. 4, p. 434-61, 2010.

DE ALMEIDA, D.E. **Expressão Gênica De Citocinas E Histopatologia Da Conjuntiva Bulbar De Cães Acometidos Por Ceratoconjuntivite Seca Decorrente De Cinomose**. 2006. Tese De Doutorado. Universidade Estadual Paulista.

DOS SANTOS, V. M.; CUNHA, SF de C.; DA CUNHA, D. F. Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 232-236, 2000.

EPAMINONDAS, K.L.; NETO, J.R.M., FIGUEIREDO, R.M.; COSTA, S.H.N. Comparação do uso de EDTA e Citrato de Sódio na realização da técnica de Velocidade De Hemossedimentação (VhHS) pelo método de Westergren Automatizado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 1.1. 2015.

FLANNERY, C.R.; LITTLE, C.B.; HUGHES, C.E.; CURTIS, C. L.; CATERSON, B.; JONES, S.A. IL-6 and its soluble receptor augment aggrecanase-mediated proteoglycan catabolism in articular cartilage. **Matrix Biol.** 19(6): 549-553, 2000.

FRIES, C. L.; REMEDIOS, A. M. The pathogenesis and diagnosis of canine hip dysplasia: A review. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 36, p. 494-501, 1995.

FROES, T.R.; GARCIA, D.A.A.; SCHMIDLIM, P.P.; PARCHEN, H.D.; SOUZA, A.C.R. .Comparative study and interobserver analysis between two diagnosis methods for hip dysplasia in dogs.**Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 4, p. 187-197, 2009.

GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Res. Ther.** 8(Suppl2): 1-6, 2006.

GEROSA, R.M. La displasia de la cadera desde una visión biomecánica. **Rev. Med. Vet.**, v.76, p.69-71, 1995.

GOLDRING, M.B. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. **Arthritis&Rheumatism**, v. 43, n. 9, p. 1916-1926, 2000.

GOMES, A.L.P. **Avaliação da dor articular crônica de tipo II em cães com osteoartrite através do índice de dor crônica de Helsínquia**. 2015. Dissertação de Mestrado.

GOMES, M.A.M.; NETO, N.C.M.; BISPO, I.G.A. Interleucina-6, moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial: revisão de literatura. **Rev. SOCERJ**, v. 22, n. 6, p. 398-403, 2009.

GUCCIONE, A. A. Arthritis and the process of disablement. **Physical therapy**, v. 74, n. 5, p. 408-414, 1994.

HACHEM, R.H.; HENNEBERG, R.; NASCIMENTO, A.J.; KOPP, R.L.; SILVA, P.H. Velocidade de Hemossedimentação (VHS) sem diluição: metodologia confiável?. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, 2010.

HANADA, T.; YOSHIMURA, A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. 2002. HAY, C. W.; CHU, Q.; BUDSBERG, S. C.; CLAYTON, M. K.; JOHNSON, K. A. Synovial fluid interleukin 6, tumor necrosis factor, and nitric oxide values in dogs with osteoarthritis secondary to cranial cruciate ligament rupture. **American Journal of Veterinary Research**, 31 Aug 1997, 58(9):1027-1032

HEIKKILÄ, H. M.; HIELM-BJORKMAN, A.K.; MORELIUS, M.; LARSEN, S.; HONKAVAARA, J.; INNES, J.F.; LAITINEN-VAPAAVUORI, O.M. Intra-articular botulinum toxin A for the treatment of osteoarthritic joint pain in dogs: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. **The Veterinary Journal**, v. 200, n. 1, p. 162-169, 2014.

HUDSON J.; SLATER M.R.; TAYLOR L.; SCOTT H.M.; KERWIN S.C. 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.

ISHIHARA, K.; HIRANO, T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. **Cytokine Growth F. R.** 13(4-5): 357-368, 2002.

JAIN, N.C: The dog: Normal hematology with comments on response to disease. In: **Schalm's Veterinary Hematology**. 3rd ed., pp.103-125, Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 1975.

KAMIMURA D, ISHIHARA K, HIRANO T. **IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model**. Rev Physiol Biochem Pharmacol.;149:1-38. 2003

KNYCH, H.K. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use in Horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, 2017.

LAWRENCE, R.C.; FELSON, D.T.; HELMICK, C.G.; ARNOLD, L.M.; CHOI, H.; DEYO, R.A.; GABRIEL, S.; HIRSCH, R.; HOCHBERG, M.C.; HUNDER, G.G.; JORDAN, J.M.; KATZ, J.N.; KREMERS, H.M.; WOLFE, F. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States: Part II. **Arthritis & Rheumatism**, v. 58, n. 1, p. 26-35, 2008.

LIPSKY, P. E. Interleukin-6 and rheumatic diseases. **Arthritis Res. Ther.** 8(suppl2): 1-5, 2008.

LUENGO, M. B. A. historical revision of the main immunological events and pharmacology in the search of the understanding and treatment of inflammatory diseases. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 2, n.2, p. 64-72, 2005.

MARTINS, M.B. **Estudo das interleucinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-2R, IL-6, IL-6R, IL-8 e IL-12) e Anti-Inflamatórias (IL-4, IL-4R e IL-10) no carcinoma diferenciado da tireoide**. 2015. 1 recurso online (115 p.). Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/310264>>. Acesso em: 29 ago. 2018.

MARTINS, T.L.. **Estudo comparativo do emprego de tramadol, codeína e cetoprofeno no controle da dor pós-operatória e nos níveis de glicose, cortisol e interleucina-6 em cães submetidos à maxilectomia ou mandibulectomia**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MCLAUGHLIN, R. M.; TOMLINSON, J. Canine hip dysplasia: developmental factors, clinical signs, and initial examination steps. **Veterinary Medicine**, v. 91, p. 26-33, 1996b.

MCLAUGHLIN, R. M.; TOMLINSON, J. Radiographic diagnosis of canine hip dysplasia. **Veterinary Medicine**, v. 91, n. 2, p. 36-47, 1996a.

MEHLER, S.J.; MAY, L.R.; KING, C.; HARRIS, W.S.; SHAH, Z. A prospective, randomized, double blind, placebo-controlled evaluation of the effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on the clinical signs and erythrocyte membrane polyunsaturated fatty acid concentrations in dogs with osteoarthritis. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 109, p. 1-7, 2016.

MILLIS e LEVINE. Assessing and Measuring Outcomes, In: Millis, D. & Levine, D., **Canine Rehabilitation and Physical Therapy**, pp. 220-240. 2ª Ed, SaundersElsevier. 2014.

NEUMANN, S.; KAUP, F. J.; SCHEULEN, S. Interleukin-6 (IL-6) serum concentrations in dogs with hepatitis and hepatic tumours compared with those with extra-hepatic inflammation and tumours. **Comp Clin Path.** 2012 Oct; 21(5): 539–544.

NISHIMOTO N. IL-6 targeting therapy to retard structural joint damage in patients with rheumatoid arthritis. **Clin. Calcium.** 19(3): 425-31, 2009.

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

NOGUEIRA, S.R.; ROCHA, L.B.; TUDURY, E. A. Utilização do índice de distração no diagnóstico da displasia coxofemoral canina. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ed.10, n. 54, p. 28- 41, jan./fev, 2005.

OFA - Hip Screening: Grade Classifications. **Orthopedic Foundation for Animals** 2018 .< <https://www.ofa.org/diseases/hip-dysplasia>>. Acesso em: 20-08-2019.

OLSON, M. E.; NAGEL, D.; CUSTEAD, S.; WISE, W.; PENTTILA, K.; BURWASH, L.; RALSTON, B.; SCHATZ, C.; MATHESON-BIRD, H. The Palatability and Comparative Efficacy of Meloxicam Oral Suspension for the Treatment of Chronic Musculoskeletal Disease in Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 44, p. 26-31, 2016.

PASTORE, A.P.; MATTES, B.R.; ARAZI, L.B.; FRANCISCO, M.F.R.; POSSI, T.G. 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.

PAVAN, T.L.R. **Concentrações séricas das citocinas Interleucina-2 (IL-2), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-) e Proteína Quimiotática de Monócitos-1 (MCP-1) em cães com linfoma multicêntrico**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016

PIERMATTEI D. L.; FLO, G. L.; DeCAMP, C.E. **Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture /Repair**.4ª ed. Missouri: Editora Saunders, 2006.

PLICKERT, H.D.; BONDZIO, A.; EINSPANIER, R.; TICHY, A.; BRUNNBERG, L. Hyaluronic acid concentrations in synovial fluid of dogs with different stages of osteoarthritis. **Research in veterinary science**, v. 94, n. 3, p. 728-734, 2013.

RENNER, A.F. **Resposta do condrócitos, proteoglicana, colágeno e fibronectina da cartilagem articular, após aplicação de um protocolo de imobilização, alongamento e remobilização articular**. 2010. 113f. Tese (Doutorado em Fisioterapia) Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, São Carlos.

REZENDE, M.U.; CAMPOS, G.C.A osteoartrite é uma doença mecânica ou inflamatória? **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 48, n. 6, p. 471-474, 2013.

SAUTEBIN, L. Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy.**Fitoterapia**. 71, s.1, p. 48-57, 2000.

SILVA, M.E.M. **Determinação das interleucinas IL-6 e IL-12 no endométrio ex vivo canino sob a influência de lipopolissacarídeos e hormônios esteróides**.

2016. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016a.

SILVA, V. E.. **Análise da secreção de interleucina-6 em ratas ovariectomizadas e submetidas à reposição hormonal após reimplante dentário imediato.** 2016b. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/155210>> acessado: 16/02/2019

SILVEIRA, F. P., NICOLUZZI, J. E., JÚNIOR, N. S. S., SILVEIRA, F., NICOLLELLI, G. M., & MARANHÃO, B. S. D. A. **Avaliação dos níveis séricos de interleucina-6 e interleucina-10 nos pacientes submetidos à colecistectomia laparoscópica versus convencional.** *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 39(1), 33-40. 2018.

SMITH, G. K.; PASTER, E. R.; POWERS, M. Y.; LAWLER, D. F.; BIERY, D. N.; SHOFER, F. S.; MCKELVIE, P. J.; KEALY, R. D. Lifelong diet restriction and radiographic evidence of osteoarthritis of the hip joint in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, September 1, 2006, Vol. 229, No. 5 , Pages 690-693 (<https://doi.org/10.2460/javma.229.5.690>).

SOMMER, E. L.; FRATOCCHI, C. L. G. Displasia Coxofemoral. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP.** São Paulo, fascículo 1, volume 1, p.031-035, 1998.

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**, pp. 1127-1128..4ª ed, Mosby Elsevier. 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.

WIETHUCHTER, C.F.; LEPE, V.; OPAZO, A.; LUZIO, A.; TRONCOSO, I.; HERNANDEZ, C. **Comparación de la concentración del factor de crecimiento transformante Beta 1 (TGF- β 1) en líquido sinovial de perros con y sin enfermedad degenerativa articular.** Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, v. 29, n. 3, p. 729-733, 2018.