

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – CAMPUS UMUARAMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL**

DANIELE LEANDRO

**CORRELAÇÃO DA DOSAGEM DE INTERLEUCINA-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL E
SORO E DA VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO E
RADIOGRÁFICO EM CÃES COM LUXAÇÃO PATELAR CONGÊNITA**

UMUARAMA – PR

Janeiro/2020

DANIELE LEANDRO

CORRELAÇÃO DA DOSAGEM DE INTERLEUCINA-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL E SORO E DA VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO E RADIOGRÁFICO EM CÃES COM LUXAÇÃO PATELAR CONGÊNITA

Dissertação apresentada como parte das exigências ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal da Universidade Estadual de Maringá para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Juliano Bortolo De Conti

UMUARAMA – PR

2020

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

DANIELE LEANDRO

“CORRELAÇÃO DA DOSAGEM DE INTERLEUCINA-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL E SORO E DA VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO E RADIOGRÁFICO EM CÃES COM LUXAÇÃO PATELAR CONGÊNITA”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Juliano Bortolo De Conti

Presidente/orientador: Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Max Gimenez Ribeiro

Membro: Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Prof. Dr. Roberto Kenji Nakamura Cuman

Membro: Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Aprovada em: de de 2019.

Local da defesa: Sala de Alunos do Mestrado, Campus Regional de Umuarama-
UEM

AGRADECIMENTOS

Estas palavras são uma singela, porém sincera maneira de agradecer aos que fizeram e fazem diferença nesta caminhada.

Primeiramente à minha família, que são um porto seguro para onde sei que sempre posso voltar. Aos meus pais, Carlos e Sueli, que sempre apoiaram minhas decisões mais inusitadas. Sem os quais eu não poderia ter dedicado esses dois anos exclusivamente ao mestrado. Palavras são insuficientes para demonstrar o quanto sou grata por permitirem que eu realize meus sonhos. E aos meus irmãos, Caroline e André, por compartilharem comigo as alegrias e frustrações. Por me ouvirem nos momentos em que mais precisei e apoiarem as minhas escolhas.

Ao meu orientador Dr. Juliano De Conti, por aceitar me guiar nesse desafio. Por todos os ensinamentos desde a graduação, ajudando na minha evolução acadêmica e pessoal. Obrigada pelo conhecimento transmitido, por todo incentivo e até pelos puxões de orelha merecidos.

Aos meus amigos por não me deixarem desistir ao longo do caminho. Pela compreensão nesses dois anos quando me ouviram dizer inúmeras vezes que não podia fazer algo por causa do mestrado, ou que primeiro precisava terminar o mestrado e quando meu assunto era basicamente só o mestrado.

Às amigas que surgiram durante esse período, que compartilharam muitas conversas, risadas, cervejas e, principalmente, muito nervoso e estresse.

À Áquila e Daniele, que me ajudaram durante o experimento. Obrigada por serem pessoas tão maravilhosas e dedicarem um pouco do seu tempo nessa empreitada. Vocês foram essenciais. E, claro, ao professor Dr. Roberto Cuman por ter apresentado as meninas e por ter trazido a “luz” ao experimento.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal da UEM pela colaboração nessa jornada ao título de mestre.

CORRELAÇÃO DA DOSAGEM DE INTERLEUCINA-6 NO LÍQUIDO SINOVIAL E SORO E DA VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO E RADIOGRÁFICO EM CÃES COM LUXAÇÃO PATELAR CONGÊNITA

Resumo

A luxação patelar é uma das afecções ortopédicas mais comuns em cães, podendo ser de origem congênita ou traumática, sendo classificada como medial ou lateral e apresentando-se uni ou bilateralmente. A mesma pode resultar no aparecimento ou progressão da osteoartrose (OA), um processo crônico degenerativo que tem por mecanismos fisiopatológicos mais prováveis os fatores causadores de inflamação e a instabilidade articular. O processo inflamatório pode ser desencadeado por diferentes tipos de injúrias teciduais e os mecanismos de respostas são uma cadeia organizada e dinâmica de eventos celulares e vasculares. A resposta sistêmica ao processo inflamatório é uma resposta de fase aguda (RFA), que tem por principal objetivo manter a homeostase do organismo. Durante a RFA há liberação de diferentes mediadores, como a interleucina-6 (IL-6) a qual é pró-inflamatória. Outro marcador inflamatório é o teste de velocidade de hemossedimentação (VHS), o qual é simples e inespecífico. O objetivo desse trabalho foi analisar os marcadores de inflamação (IL-6 e VHS) em cães com diferentes graus de luxação patelar e correlacioná-los às alterações clínicas e radiográficas (graus de luxação, claudicação e osteoartrose). Foram utilizados 13 animais divididos em dois grupos, sendo o primeiro com 11 cães sintomáticos e o segundo com 2 cães hígidos. O VHS se apresentou dentro dos parâmetros normais para todos os animais. Não houveram relações estatisticamente significativas para a dosagem de IL-6 no líquido sinovial. Foi observada correlação forte entre a dosagem de IL-6 no soro e o grau de OA, sugerindo um possível biomarcador inflamatório para a condição.

Palavras-chave: Inflamação, Artrite, Artrose, Osteoartrite, Osteoartrose, VHS, Veterinária, Medicina

CORRELATION OF INTERLEUKIN-6 DOSAGE IN SYNOVIAL FLUID AND SERUM AND ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE IN CLINICAL AND RADIOGRAPHIC STUDY IN DOGS WITH CONGENITAL PATELLAR LUXATION

Abstract

Patellar luxation is one of the most common orthopedic disorders in dogs, it may be of congenital or traumatic origin, being classified as medial or lateral and affects one or both knees. It may result in the appearance or progression of osteoarthritis (OA), a chronic degenerative process that has as the most likely pathophysiological mechanism inflammatory mediators and joint instability. The inflammatory process can be triggered by different types of tissue injuries and the response mechanism is a dynamic and organized chain of cellular and vascular events. The systemic response to inflammation is an acute phase response (APR), whose main goal is to maintain the body's homeostasis. During the APR there is the release of different mediators, as interleukin-6 (IL-6) that is pro-inflammatory. Another inflammatory marker is the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test, which is simple and nonspecific. The aim of this study was to analyze inflammation markers (IL-6 and ESR) in dogs with different patellar luxation grades and to correlate them to clinical and radiographic alterations (grades of luxation, lameness and osteoarthritis). 13 animals were divided into two groups, the first with 11 symptomatic dogs and the second with 2 healthy dogs. The ESR was normal for all animals. There were no statistically significant relationships for synovial fluid IL-6 dosage. A strong correlation was observed between the serum IL-6 dosage and the OA grade, suggesting a possible inflammatory biomarker for the condition.

Keywords: Inflammation, Arthritis, Arthrosis, Osteoarthritis, Osteoarthritis, ESR, Veterinary, Medicine

Lista de Tabelas

Tabela 1. Frequência de distribuição dos graus de luxação patelar dos animais estudados.....	29
Tabela 2. Dados gerais de identificação dos animais estudados, classificação clínica, radiográfica e dados laboratoriais	30
Tabela 3. Frequência de distribuição dos graus de claudicação dos animais estudados	31
Tabela 4. Frequência de distribuição dos graus de osteoartrose dos animais estudados.....	31
Tabela 5. Tabulação da curva padrão de IL-6.....	32
Tabela 6. Correlação de Pearson das variáveis avaliadas	33

Lista de Quadros

Quadro 1. Classificação do Grau de Claudicação, adaptado de Nganvongpanit et al. (2009) e positivamente relacionado com o Grau de Luxação Patelar	25
Quadro 2. Classificação dos Graus de Luxação de Patela de acordo com Denny e Butterworth (2006).....	26
Quadro 3. Classificação do Grau de Osteoartrose (OA) de acordo com Kellgreen e Lawrence (1957)	26

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Curva padrão de IL-6.....	32
Gráfico 2. Gráfico de dispersão dos coeficientes de correlação de Pearson	33

Lista de Abreviaturas e Siglas

UEM – Universidade Estadual de Maringá

OA – osteoartrose

AINEs – anti-inflamatórios não-esteroidais

COX-1 – cicloxigenase-1

COX-2 – cicloxigenase-2

IL-1 – interleucina-1

TNF – fator de necrose tumoral

IL-6 – interleucina-6

PFA – proteínas de fase aguda

RFA – resposta de fase aguda

PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos

DAMPs – padrões moleculares associados ao dano

ACTH – hormônio adrenocorticotrófico

kDa – quilodalton

IL-10 – interleucina-10

VHS – velocidade de hemossedimentação

ICSH – *International Committee for Standardization in Hematology*

mm – milímetros

h – hora

°C – graus Celsius

kg – quilogramas

mg – miligramas

IM – intramuscular

IV – intravenoso

µg – microgramas

ml – mililitros

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

rpm – rotações por minuto

ELISA – *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

nm – nanômetros

ng – nanogramas

LUX – luxação

CLAUD - claudicação

MPD – membro pélvico direito

M - macho

F - fêmea

SRD – sem raça definida

CV – coeficiente de variação

Log – logaritmo

Abs – absorbância

CCL2/MCP-1 – proteína quimioatraente de macrófagos

SUMÁRIO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
1.1 Luxação Patelar	13
1.2 Osteartrose.....	17
1.3 Processo Inflamatório.....	19
1.4 Interleucina-6.....	22
1.5 Velocidade de Hemossedimentação	22
2. OBJETIVO GERAL	24
2.1 Objetivos específicos	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
Critérios de inclusão.....	26
Critérios de exclusão.....	26
Coleta do Líquido sinovial	27
Coleta de amostra sanguínea	27
Exame radiográfico	28
Dosagem de interleucina-6	28
Análise estatística	29
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Luxação patelar

Os distúrbios da articulação fêmoro-tíbio-patelar são frequentes causas de claudicação e impotência do membro pélvico em cães, dentre eles destaca-se a luxação de patela, uma das condições ortopédicas mais comuns que acometem o joelho de cães, onde ocorre um deslocamento intermitente ou permanente da patela em relação ao sulco troclear do fêmur, normalmente durante a locomoção do animal (PRIESTER, 1972; ROUSH, 1993; HULSE, 2003).

A afecção pode ser de origem congênita ou traumática, sendo classificada no que diz respeito à direção como medial ou lateral, apresentando-se uni ou bilateralmente (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; BOUND et al, 2009).

A etiologia da luxação congênita não foi definitivamente estabelecida, mas acredita-se que está relacionada com anormalidades do desenvolvimento do membro criando um desalinhamento do quadríceps. Ela recebe este nome por ocorrer no início da vida e não ser associada à traumas. Embora a luxação possa não estar presente ao nascimento, as deformidades anatômicas que a causam estão e as mesmas são responsáveis pelas subseqüentes luxações patelares. A luxação traumática é consequência de traumatismo na face lateral do joelho (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; DECAMP et al., 2016).

O risco de apresentar a doença é maior em cães de raças pequenas e médias do que em cães de raças grandes, sendo consideradas como raças predispostas o Poodle, Pinsher, Yorkshire Terrier, Chihuahua, Spitz Alemão, Shih Tzu, Pequinês, Cocker Spaniel, Bulldog, Sharpei e Boston Terrier. As raças maiores possuem uma maior incidência da luxação patelar lateral, enquanto nas raças menores há evidências de maior prevalência da luxação patelar medial (PRIESTER, 1972; HAYES et al., 1994; LA FOND et al., 2002; GIBBONS et al., 2006; BOUND et al., 2009; O'NEILL et al., 2016).

Apesar da luxação de patela ser historicamente mais diagnosticada em cães de raças pequenas, a incidência tem aumentado em cães de raças grandes como no Akita, Labrador Retriever, Chow Chow, São Bernardo, Husky e Malamute (GIBBONS et al., 2006; PIERMATTEI et al., 2006; KRAUS, 2013).

A luxação de patela medial é a mais frequente, compreendendo 75 a 80% dos casos, sendo o envolvimento bilateral observado cerca de 20 a 25% das vezes. A simultânea ruptura do ligamento cruzado está presente em 15 a 20% dos casos de cães de meia-idade e idosos com luxação patelar crônica (PIERMATTEI et al., 2006; FOSSUM, 2008; BOUND et al., 2009).

Os sinais clínicos variam desde instabilidade sem sinais clínicos associados até a luxação completa e irreduzível da patela. Também variam de acordo com a severidade com que o membro é acometido. O animal pode apresentar dor, diferentes graus de claudicação em um ou ambos membros pélvicos, alterações de ossos e tecidos adjacentes (FERGUSON, 1997; FILHO et al., 2005).

O método de classificação do grau da luxação e da deformidade óssea facilita o diagnóstico e a decisão do tratamento (PIERMATTEI et al., 2009). Embora os graus nem sempre correspondam aos sinais clínicos, eles podem ser úteis no monitoramento do progresso da doença em animais jovens e assintomáticos, ou no planejamento do reparo cirúrgico (DENNY e BUTTERWORTH, 2006).

Os graus de luxação estão correlacionados com a gravidade das anormalidades anatômicas (DECAMP et al., 2016).

Na luxação de grau I os pacientes normalmente não apresentam claudicação e o diagnóstico é feito por achados durante o exame físico. A luxação pode ser obtida manualmente durante o exame, mas a patela volta à posição normal quando a pressão é liberada. Durante a movimentação de extensão e flexão a articulação apresenta-se normal e não há crepitação aparente (FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009).

Na luxação de grau II é comum a claudicação leve e intermitente. Torção de fêmur e deformidades angulares leves podem estar presentes. A patela pode ser deslocada manualmente sob pressão ou pode luxar durante a flexão da articulação. A redução nem sempre é imediata, sendo necessária a redução com auxílio do examinador ou de forma espontânea quando o animal rotaciona a tíbia. Pode-se perceber leve crepitação na flexão e extensão da articulação (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009).

Na luxação de grau III a patela permanece luxada permanentemente, mas pode ser reduzida manualmente na extensão da articulação. Entretanto a luxação ocorre novamente quando há flexão e extensão do joelho. Há rotação e deslocamento da

crista tibial entra 30 e 60° a partir do plano craniocaudal. Ocorre abdução-adução do tarso durante a flexão-extensão do membro e o sulco troclear apresenta-se raso ou achatado (SINGLETON, 1969; FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009).

Na luxação de grau IV a patela apresenta-se luxada permanentemente, não podendo ser reduzida manualmente. O animal locomove-se com os membros pélvicos parcialmente flexionados e agachados, já que são incapazes de promover a completa extensão do joelho. Pode ocorrer rotação da tíbia de 80 a 90° em relação ao plano craniocaudal. A tróclea apresenta-se rasa, ausente ou convexa. Há também deslocamento dos músculos do quadríceps (SINGLETON, 1969; DENNY e BUTTERWORTH, 2006; FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009).

A afecção pode ainda apresentar alterações musculoesqueléticas como deslocamento medial do quadríceps, arqueamento lateral do terço distal do fêmur, torção lateral do fêmur distal, displasia epifisária femoral, instabilidade rotacional do joelho, deformidade da tíbia, arrasamento ou ausência do sulco troclear devido à falta de pressão direta da patela sobre o mesmo, deslocamento medial da tuberosidade da tíbia, arqueamento medial da tíbia proximal, torção lateral da tíbia distal e doença articular degenerativa (FOSSUM, 2008; SCHULZ, 2013; DECAMP et al., 2016).

Alguns fatores podem contribuir para a afecção como a frouxidão do ligamento patelar, o arrasamento do sulco troclear e um ângulo incorreto do eixo do colo femoral (ROUSH, 1993; FERGUSON, 1997).

O diagnóstico é baseado no histórico do animal e um exame físico cuidadoso. O animal deve ser avaliado durante a caminhada e ao trote, deve-se observar o alinhamento do membro e fazer a palpação minuciosa do joelho. Para melhor avaliação o animal deve ser examinado em decúbito lateral, aplica-se leve pressão sobre a patela tentando deslocá-la de sua posição original, realiza-se a extensão e flexão da articulação e rotaciona-se a tíbia lateral e medialmente. Durante o exame deve ser observado a presença de instabilidades, crepitações, grau de rotação da tuberosidade tibial, torção e angulação do membro, incapacidade de redução da patela, localização da patela reduzida dentro do sulco troclear, incapacidade de extensão do membro em ângulo normal e presença ou ausência de movimento de gaveta (FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009; TUDURY et al., 2011).

A radiografia ajuda a confirmar o diagnóstico e auxilia na avaliação de deformidades ósseas e do grau de alterações degenerativas presentes na articulação. As projeções indicadas são a craniocaudal, médio-lateral e skyline da articulação fêmoro-tíbio-patelar. Em casos de luxação grave com importante rotação de fêmur e tíbia, é indicada a utilização de tomografia computadorizada (TOWLE et al., 2005; KOWALESKI et al., 2012).

O tratamento pode ser conservador ou cirúrgico, dependendo do histórico clínico, dos achados no exame físico, da frequência das luxações e da idade do paciente (FOSSUM, 2008).

O tratamento conservador limita-se aos animais que não apresentam sinais clínicos e que não possuem potencial de evolução para graus mais elevados, e inclui uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e condroprotetores (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; SLATTER, 2007). O tratamento cirúrgico é indicado em animais sintomáticos de qualquer idade e tem como objetivo o realinhamento do mecanismo quadríceps e estabilização da patela no sulco troclear, por meio de técnicas operatórias de reconstrução de tecidos moles e reconstrução de tecido ósseo (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; PIERMATTEI et al., 2009). A escolha das técnicas e o planejamento cirúrgico devem ser baseados na avaliação radiográfica e nos achados intra-operatórios (PÉREZ e LAFUENTE, 2014).

Um estudo feito por Lara et al. (2018) concluiu que a reparação cirúrgica é o tratamento indicado para todos os animais que apresentam a luxação patelar, mesmo quando os sinais clínicos são leves ou ausentes, pois a condição desencadeia alterações patelares e extra-patelares, as quais promovem a progressão da degeneração da articulação e podem dificultar o procedimento cirúrgico.

O prognóstico é muito bom na maioria dos casos, com cerca de 90 a 95% dos pacientes recuperando a função normal do membro. Porém depende da idade do animal, da severidade das deformidades ósseas e musculares e da severidade da doença articular degenerativa desenvolvida, a qual continua a progredir mesmo com o tratamento cirúrgico (DENNY e BUTTERWORTH, 2006; FARESE, 2006; FOSSUM, 2008). O prognóstico geralmente é bom para luxações de graus II e III, mas reservado para as de grau IV (DAVIDSON e KERWIN, 2014).

1.2 Osteoartrose

A osteoartrose (OA) é um processo crônico degenerativo que pode acometer diferentes articulações, porém é principalmente observada naquelas que suportam o peso do animal como os joelhos e quadris. É uma afecção de evolução lenta e de grande importância clínica que acomete cães de todas as idades, raças e ambos os sexos (GOLDRING e GOLDRING, 2007; KYOSTIO-MOORE et al., 2013; YAN et al., 2017).

É caracterizada por dor, claudicação em diferentes graus, edema, crepitação e rigidez articular, acompanhadas por degeneração da cartilagem articular, inflamação sinovial leve e alterações em ossos, ligamentos, meniscos, tendões e músculos periarticulares. A extensão da degeneração da cartilagem articular é relacionada à severidade da doença (GOLDRING, 2012; KYOSTIO-MOORE et al., 2013; YAN et al., 2017).

A OA é resultante de diversos fatores de risco, porém sua patogênese ainda não foi totalmente compreendida (ZHUANG et al., 2018). Acredita-se que os mecanismos fisiopatológicos mais prováveis são fatores causadores de inflamação articular e instabilidade resultante de traumas e incongruências (BRUIN et al., 2005; FUJITA et al., 2005; GOLDRING e GOLDRING, 2007).

Estudos mais recentes têm considerado que alterações estruturais no osso subcondral têm um grande impacto na degeneração da cartilagem articular e um papel importante na progressão da afecção, demonstrando que há um remodelamento do osso nos estágios iniciais da OA. Esse remodelamento resulta no espessamento e esclerose do mesmo, levando também à formação de osteófitos, hiperplasia sinovial, efusão articular e sinovite secundária (LOESER, 2013; ZAMLI et al., 2016; ZUO et al., 2016).

Diversos processos moleculares e celulares estão envolvidos nestas mudanças patológicas como o aumento do catabolismo da cartilagem e decréscimo no anabolismo da mesma, hipertrofia e morte de condrócitos, remodelação óssea pelos osteoclastos, e infiltração e ativação de células imunes (ROBINSON et al., 2016).

Acredita-se que a luxação de patela associada a deformidades ósseas angulares e rotacionais possam resultar no aparecimento ou progressão da OA (ALAM et al., 2011). Roy et al. (1992) concluíram que algumas técnicas de reparo

cirúrgico acarretam uma inflamação sinovial e danos à cartilagem articular, os quais também podem levar à uma progressão da OA pela liberação de proteases.

Os sinais clínicos podem ser intermitentes ou persistentes e incluem dor, claudicação, tolerância reduzida ao exercício, podendo apresentar atrofia muscular em casos mais graves (TAYLOR, 2009; MALFAIT e SCHNITZER, 2013).

O diagnóstico baseia-se no histórico clínico, exame físico e achados radiográficos característicos como presença de osteófitos, entesófitos, efusão sinovial, edema de tecidos moles, esclerose do osso subcondral, estreitamento do espaço intra-articular, mineralização intra-articular, calcificação da cápsula articular e remodelação óssea (TAYLOR, 2009; BENNETT, 2010; INNES, 2012).

A ultrassonografia pode ser útil na avaliação de alterações na cartilagem, meniscos, anormalidades em músculos, tendões e ligamentos. Porém existem frequentes limitações em raças de pequeno porte devido ao tamanho das articulações, resultando em uma janela limitada para a captação de imagens (MARINO e LOUGHIN, 2010).

A tomografia computadorizada permite a avaliação de injúrias ósseas que não podem ser notadas na avaliação radiográfica. As alterações iniciais presentes em tecidos moles periarticulares e cartilagem articular podem ser avaliadas mais detalhadamente por artroscopia ou ressonância magnética (MOSHER et al., 2013; COPPIETERS et al., 2016).

Apesar da ressonância magnética ser considerada “padrão ouro” na medicina humana, o exame radiográfico permanece como método principal para diagnóstico de afecções articulares na rotina clínica veterinária (MARINO e LOUGHIN, 2010; COPPIETERS et al., 2016).

Devido às lesões degenerativas serem irreversíveis, o tratamento tem por objetivo o alívio dos sinais clínicos e a prevenção de futuras lesões (ECHIGO et al., 2006; MEASE et al., 2011). A abordagem terapêutica dependerá da gravidade e localização da lesão (LINDLEY e WATSON, 2010). Parâmetros como dor, amplitude de movimento articular, mobilidade e atividade do paciente são fatores a serem considerados pelo Médico Veterinário na escolha do tratamento que inclui, primariamente, analgésicos, AINEs e condroprotetores (COIMBRA et al., 2004; LINDLEY e WATSON, 2010; MILLIS e LEVINE, 2014).

1.3 Processo Inflamatório

A inflamação é um mecanismo de defesa caracterizado como próprio dos tecidos conjuntivos, pois os agentes que atuam nas áreas acometidas necessitam dos vasos para chegarem até as mesmas (CHAMUSCA et al., 2012).

Os agentes efetores da inflamação fazem parte do exsudato, composto por um conjunto de substâncias que extravasam pelas paredes dos vasos da microcirculação na área acometida; e do infiltrado celular, que é um conjunto de células que alcança a área agredida atravessando a parede das vênulas e capilares e se “infiltrando” nos espaços teciduais (CHAMUSCA et al., 2012).

A inflamação pode ser desencadeada por diferentes tipos de injúrias teciduais e induz sinais locais característicos como hipertermia, hiperemia, edema, dor e perda de função. Nos tecidos acometidos há abundante infiltração de células inflamatórias como neutrófilos, eosinófilos e macrófagos. O recrutamento dessas células é realizado principalmente pela expressão de citocinas (AOKI e NARUMIYA, 2012).

O processo inflamatório pode ser classificado como agudo, subagudo ou crônico. A resposta inflamatória aguda inicia-se rapidamente após um dano tecidual, agrava-se em curto intervalo de tempo e seus sintomas duram poucos dias. A inflamação subaguda corresponde ao período entre a inflamação aguda e a crônica, durando de duas a seis semanas. Já a inflamação crônica define-se como uma inflamação lenta, de longa duração podendo persistir por meses a anos (PAHWA e JIALAL, 2018).

Os mecanismos da inflamação representam uma cadeia organizada e dinâmica de eventos celulares e vasculares. A resposta vascular ocorre, normalmente, alguns minutos após a injúria levando a uma vasodilatação e aumento da permeabilidade dos vasos, permitindo a entrada dos mediadores inflamatórios. Os eventos celulares envolvem a entrada e adesão de células ao endotélio (ABDULKHALEQ et al., 2018).

O processo inflamatório inicia-se no local do trauma. Diversos mediadores químicos são liberados como histamina, serotonina, bradicinina e eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) (ABDULKHALEQ et al., 2018).

Os eicosanoides são metabólitos do ácido araquidônico, que é o principal componente da membrana fosfolipídica das células. Os leucotrienos derivam da via

da lipoxigenase e as prostaglandinas e tromboxanos da via da cicloxigenase, que possui duas isoformas: COX-1 e COX-2 (ABDULKHALEQ et al., 2018).

Além disso, macrófagos e monócitos estimulam a liberação de citocinas, especialmente interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF), consideradas interleucinas primárias, as quais induzem a liberação de mais citocinas, destacando-se a interleucina-6 (IL-6), que tem sido considerada a principal indutora da síntese das proteínas de fase aguda (PFA) pelo fígado e mediadora das respostas de defesa orgânica (SANTOS e ALBERTO, 2014). O aumento da liberação dessas citocinas, aumenta a concentração das mesmas no plasma, fazendo com que elas tenham ação nos órgãos, principalmente no cérebro e no fígado, acarretando uma resposta imune sistêmica (ABDULKHALEQ et al., 2018).

A resposta sistêmica ao processo inflamatório é uma resposta de fase aguda (RFA) de defesa, sendo um processo dinâmico que envolve mudanças sistêmicas e metabólicas desencadeadas imediatamente após qualquer inflamação, infecção, injúria tecidual, trauma cirúrgico, crescimento neoplásico ou alteração imunológica, com o objetivo principal de permitir a manutenção da homeostase no organismo (SERIN e ULUTAS, 2010; RUBIO et al., 2014).

A RFA faz parte do sistema imune inato e é representada por um conjunto de barreiras físicas, químicas e biológicas, bem como células especializadas e moléculas solúveis, formando um mecanismo de defesa primário e não específico contra injúrias ao organismo antes do sistema imune (imunidade específica) ser ativado. É o primeiro estágio da reação inflamatória, sendo que essa resposta consiste em alterações na concentração das PFA (GRUYS et al., 2006; CRUVINEL et al., 2010; SANTOS e ALBERTO, 2014).

A RFA é uma resposta induzível do sistema imune inato desencadeada pelo reconhecimento de organismos patogênicos, através de receptores denominados de receptores de reconhecimento padrão. Os mesmos podem reconhecer estruturas moleculares presentes nos microrganismos invasores, recebendo o nome de padrões moleculares associados a patógenos ou PAMPs. (MEDZHITOV e JANEWAY, 2000).

O sistema imune inato também reconhece moléculas endógenas, denominadas de padrões moleculares associados ao dano ou DAMPs. Estas substâncias são

produzidas ou liberadas por células danificadas por infecções, toxinas, queimaduras, traumas, ou células apoptóticas (WARD, 2012).

A RFA tem por finalidade limitar a lesão tecidual, isolar e destruir microrganismos, e ativar o processo de reparação necessário para restaurar o equilíbrio das funções orgânicas. As reações locais envolvem a agregação plaquetária, vasodilatação, acúmulo e ativação de granulócitos e células mononucleares que liberam citocinas (interleucinas) e interferons. Esses mediadores agem em receptores específicos de diferentes células-alvo, provocando uma reação sistêmica, a qual inclui febre, dor, leucocitose, aumento da velocidade de hemossedimentação, aumento da secreção do ACTH, diminuição dos níveis séricos de ferro e zinco, balanço nitrogenado negativo, ativação do sistema complemento e da cascata de coagulação e mudança na concentração das PFA, sintetizadas no fígado (SANTOS e ALBERTO, 2014).

A concentração sérica das PFA está diretamente ligada à severidade do processo inflamatório, portanto, utilizá-las como um marcador de inflamação facilita a detecção precoce desse processo (GARCIA et al., 2002).

As PFA apresentam uma grande importância clínica na Medicina Veterinária uma vez que providenciam um método eficaz de monitoramento da saúde do animal. Embora não possam ser utilizadas isoladamente como exame diagnóstico, fornecem informação objetiva sobre a extensão da doença infecciosa ou inflamatória e auxiliam na detecção de infecções subclínicas (PETERSEN et al., 2004).

A maioria das PFA positivas (aumentam a concentração durante a inflamação) são glicoproteínas sintetizadas, principalmente, por hepatócitos sob a estimulação de citocinas pró-inflamatórias liberadas na corrente sanguínea na fase aguda da inflamação (SANTOS e ALBERTO, 2014).

A concentração máxima das PFA é atingida entre 24 a 48 horas após o início da RFA. A diminuição da concentração ocorre em paralelo à recuperação da injúria. Em geral, um mecanismo de retroalimentação limita essa resposta de acordo com o reestabelecimento da homeostase (SANTOS e ALBERTO, 2014).

1.4 Interleucina-6

As interleucinas são citocinas que intermedeiam a sinalização entre linfócitos e outros leucócitos. A IL-6 é uma glicoproteína de 22 a 28 kDa que consiste no principal mediador da reação de fase aguda e do choque séptico (TIZARD, 2014). É uma citocina pleiotrópica e sua síntese ocorre em diversas células como monócitos, células endoteliais, células sinoviais, fibroblastos, queratinócitos, mastócitos, linfócitos T e B, células tumorais, macrófagos, em resposta à endotoxinas de microrganismos ou ao estímulo de outras citocinas como IL-1 e TNF. (NISHIMOTO et al., 2000; GOMES et al., 2009; POLUHA e GROSSMANN, 2018).

É uma interleucina pró-inflamatória que atua nas respostas imunes inata e adaptativa. Participa na regulação de diversas atividades imunológicas, incluindo a síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado, na inflamação, hematopoiese e na oncogênese. Também media a indução do processo de diferenciação do progenitor dos osteoclastos e a atividade osteoclástica (GOMES et al., 2009; POLUHA e GROSSMANN, 2018).

A IL-6 promove a maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e a diferenciação e manutenção de linfócitos T e células *natural killers*. Também apresenta ação anti-inflamatória, uma vez que inibe algumas atividades de TNF e IL-1 e promove a síntese de citocinas supressoras, como a IL-10 (TIZARD, 2014; CAMEJO et al., 2017; POLUHA e GROSSMANN, 2018).

Sugere-se que a IL-6 regula a transição da fase que é predominantemente marcada pela presença de neutrófilos, no início do processo inflamatório, para a fase inflamatória mais tardia, em que os macrófagos são dominantes (TIZARD, 2014).

Tanto a IL-6 quanto seu receptor são expressos em baixos níveis no estado fisiológico, porém quando há uma lesão tecidual, passam a ser amplamente expressos, sendo suas concentrações plasmáticas detectáveis em 60 minutos, com pico entre 4 e 6 horas, podendo persistir por até 10 dias (GOMES et al., 2009; POLUHA e GROSSMANN, 2018).

1.5 Velocidade de Hemossedimentação

A velocidade de hemossedimentação (VHS) é um teste de laboratório simples e de baixo custo utilizado como marcador inespecífico de processos inflamatórios,

infeciosos e neoplásicos (COLLARES e VIDIGAL, 2004; EPAMINONDAS et al., 2015).

A técnica foi padronizada em 1920 por Westergren, considerada padrão ouro e recomendada pelo *International Committee for Standardization in Hematology* (ICSH) (EPAMINONDAS et al., 2015).

O método consiste na medida da altura da camada de hemácias de uma amostra de sangue anticoagulado sedimentada em um tubo de vidro graduado durante um determinado período de tempo (MERISIO e ALFF, 2013). Coloca-se sangue venoso anticoagulado com citrato de sódio a 3,8% na proporção de 4:1 em um tubo de vidro graduado, com 200 mm de comprimento e 2,5 mm de diâmetro interno. O tubo é preenchido até a marca zero e deixado em repouso na posição vertical por uma hora. A distância do menisco até o topo da coluna de eritrócitos indicará a VHS, expressa em mm/h (COLLARES e VIDIGAL, 2004; MERISIO e ALFF, 2013).

O exame deve ser realizado no máximo até 2 horas após a coleta e a uma temperatura entre 20°C e 25°C (COLLARES e VIDIGAL, 2004).

Existem variações na metodologia da análise, como o uso do EDTA como anticoagulante. Esta modificação passou a ser considerada referência para VHS pela ICSH a partir de 1993. Este método permite que a mesma amostra de sangue seja utilizada para outros exames hematológicos e a técnica pode ser realizada até 12 horas após a coleta (MORRIS e DAVEY, 2001).

Outro processo que pode ser utilizado é o preconizado por Wintrobe, o qual é mais sensível para aumentos discretos da VHS. Neste é utilizado um tubo de 100 mm com o anticoagulante oxalato (COLLARES e VIDIGAL, 2004).

Atualmente a VHS já pode ser determinada de forma mais rápida e precisa em sistema semi ou totalmente automatizado (ROMERO et al., 2003).

A fundamentação do procedimento se baseia no fato de que a sedimentação eritrocitária depende da agregação de hemácias e da formação de rouleaux (MERISIO e ALFF, 2013). Quando as hemácias se agregam ao longo de um mesmo eixo formando rouleaux, o peso da partícula aumenta em relação à sua superfície, aumentando sua densidade e promovendo sua sedimentação (COLLARES e VIDIGAL, 2004).

Os eritrócitos possuem carga negativa tendendo a se repelirem, limitando a formação do agregado. Várias PFA se encontram suspensas no plasma e são carregadas positivamente, o aumento da concentração das mesmas permite a neutralização da carga da superfície eritrocitária rompendo o equilíbrio, levando à maior agregação de hemácias e consequente formação de rouleaux (MERISIO e ALFF, 2013).

A presença de proteínas plasmáticas como globulinas α , β e γ , e albumina aceleram a VHS. Por outro lado, a VHS pode ser reduzida por rigidez e alterações morfológicas dos eritrócitos (SANTOS et al., 2000). Em cães a elevação da VHS está relacionada com processos infecciosos agudos, inflamatórios localizados, traumas, neoplasias, prenhes e nefropatias terminais (VECINA, 2009).

2. OBJETIVO GERAL

Analisar marcadores de inflamação em cães com diferentes graus de luxação patelar e correlacioná-los às alterações clínicas e radiográficas.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar dosagem de interleucina-6 no líquido sinovial e soro em grupo sintomático e em grupo controle;
- Quantificar a velocidade de hemossedimentação nos animais de ambos os grupos;
- Correlacionar os resultados dos testes entre eles e com os graus de luxação, claudicação e osteoartrose.

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 utilizados um total de treze animais divididos em dois grupos, sendo o primeiro com onze animais diagnosticados com diferentes graus de luxação patelar, e o segundo grupo com dois animais hígidos.

Os animais utilizados foram selecionados da rotina de uma clínica Veterinária particular, os quais foram submetidos à procedimento cirúrgico de ovariohisterectomia, orquiectomia ou reparação cirúrgica de luxação de patela.

Todos os animais passaram, após a realização da anamnese, por exame físico completo, exame ortopédico completo, classificação do grau de claudicação de acordo com a escala de Nganvongpanit et al. (2009) (Quadro 1), classificação quanto ao grau de luxação patelar de acordo com Denny e Butterworth (2006) (Quadro 2), coleta de líquido sinovial da articulação fêmoro-tíbio-patelar, coleta de amostra sanguínea e exame radiográfico para avaliação da osteoartrose e, quando identificada, classificada segundo Kellgren e Lawrence (1957) (Quadro 3). Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo avaliador não encoberto.

Quadro 1. Classificação do Grau de Claudicação, adaptado de Nganvongpanit et al. (2009) e positivamente relacionado com o Grau de Luxação Patelar.

Grau 0	Sem claudicação, apoio total do membro e marcha normal.
Grau 1	Claudicação leve ou intermitente.
Grau 2	Claudicação moderada.
Grau 3	Claudicação severa e alterações graves da marcha.
Grau 4	Relutante ao movimento, apenas alguns passos antes da supressão total do apoio.

Nganvongpanit et al. (2009).

Quadro 2. Classificação dos Graus de Luxação de Patela de acordo com Denny e Butterworth (2006).

Grau 1	Luxação patelar intermitente com deslocamento manual de toda a extensão e redução espontânea na liberação.
Grau 2	Luxação patelar frequente à flexão da articulação ou pressão digital, em que a redução espontânea não é sempre imediata.
Grau 3	Luxação patelar permanente, em que a redução manual é possível, mas ocorre luxação recorrente espontânea quando liberada.
Grau 4	Luxação patelar permanente em que a redução manual não é possível.

Denny e Butterworth (2006).

Quadro 1. Classificação do Grau de Osteoartrose (OA) de acordo com Kellgreen e Lawrence (1957).

Grau 0	Normal.
Grau 1	Estreitamento do espaço articular duvidoso e possível osteófitos na borda.
Grau 2	Possível estreitamento do espaço articular e osteófito definido.
Grau 3	Definido estreitamento do espaço articular, múltiplos osteófitos moderados, alguma esclerose subcondral e possível deformidade do contorno ósseo.
Grau 4	Notável estreitamento do espaço articular, severa esclerose subcondral, definida deformidade do contorno ósseo e presença de grandes osteófitos.

Kellgreen e Lawrence (1957).

Critérios de inclusão

Foram aceitos animais de diferentes raças, ambos os sexos, entre um e doze anos de idade e com peso de até 25kg.

Animais com diagnóstico confirmado de luxação patelar.

Critérios de exclusão

Não foram aceitos animais que apresentavam qualquer alteração ortopédica não relacionada à luxação patelar e que apresentavam afecção sistêmica de caráter inflamatório e/ou infeccioso.

Fêmeas gestantes ou em estro.

Animais que estavam utilizando medicação anti-inflamatória e/ou analgésica nos últimos 15 dias antecedentes à avaliação.

Coleta do líquido sinovial

A coleta do líquido sinovial foi realizada após o animal estar anestesiado para o procedimento cirúrgico. Como este estudo não visava a análise de protocolo anestésico dos animais, qualquer um utilizado pelo anestesista foi aceito. Porém no protocolo padrão o animal estava em jejum hídrico e alimentar de 6 horas. Foi utilizada como medicação pré-anestésica morfina (0,5 mg/kg IM) ou metadona (0,5 mg/kg IM), animal foi induzido com propofol (6 mg/kg IV), foi feita a infusão contínua de fentanil (0,4 µg/kg IV) e manutenção com isoflurano com fluxo contínuo de oxigênio (via inalatória). No caso de cirurgia de reparação da luxação patelar os animais também receberam anestesia epidural com lidocaína (0,2 mg/kg). No pós-cirúrgico foi feito uso de opióides e anti-inflamatórios não-esteroidais para controle da dor.

Foi feita tricotomia e antissepsia da região, foram coletadas amostras de até 0,5 ml do líquido sinovial através de punção lateral ao ligamento patelar entre a patela e a tuberosidade da tíbia, com uma agulha hipodérmica número 30x7 acoplada à seringa descartável de 5 ml. As amostras foram armazenadas em tubos eppendorfs e mantidas em freezer de ultrabaixa temperatura (-80°C) até o dia da análise.

Coleta de amostra sanguínea

Os cães foram submetidos à punção venosa (veia jugular) utilizando-se agulhas e seringas descartáveis. Foi coletado 4 ml de sangue, o qual foi depositado parte em tubo com anticoagulante EDTA e parte em tubo sem anticoagulante.

Do tubo com EDTA foi realizado o hemograma na sequência da coleta através do analisador automático de hematologia MEK-6550 (*Nihon Kohden*).

A VHS também foi realizada logo após a coleta da amostra sanguínea no tubo com EDTA seguindo o método de *Westergren* (sem diluição) utilizando uma pipeta de *Westergren* de 200mm da marca *Precision* com o auxílio de uma pêra pipetadora de três válvulas em borracha da marca *J-ProLab*. A pipeta foi posicionada verticalmente realizando a leitura correspondente à distância entre o menisco do plasma e a coluna de hemácias, medida em mm/h, estimando a Velocidade da Sedimentação das

hemácias em 60 minutos. Os valores da VHS para cães saudáveis devem ser menores que 10 mm/h (JAIN, 1975).

O tubo sem anticoagulante foi deixado em temperatura ambiente até a retração do coágulo. Na sequência foi colocado em centrífuga por 10 minutos a 1500 rpm para a separação do soro, o qual foi posteriormente transferido para tubo eppendorf e mantido em freezer de ultrabaixa temperatura (-80°C) até o dia da análise.

Exame radiográfico

Foram realizadas radiografias digitais da articulação fêmoro-tíbio-patelar imediatamente após a coleta do líquido sinovial, aproveitando a sedação do animal para um melhor posicionamento.

Nos casos de luxação bilateral o membro eleito foi o que apresentou maior grau de luxação.

As radiografias foram feitas nas projeções craniocaudal e médio-lateral do joelho utilizando-se aparelho digitalizado.

Dosagem de interleucina-6

Para dosagem de IL-6 foi utilizado o método de Elisa (*Canine IL-6* Elisa kit – Thermo Scientific EUA/Canada) de acordo com as orientações do fabricante. Resumidamente, amostras de líquido sinovial e soro 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 incubado por mais 1 hora. Seguindo outra lavagem, houve a adição de estreptavidina com incubação de 45 minutos. Então a placa foi novamente lavada, adicionou-se o substrato da enzima e foi feita incubação no escuro por 30 minutos. Por fim fez-se a adição da solução de parada, seguida da leitura em espectrofotômetro a 450/630 nm.

A quantificação de IL-6 foi baseada em uma curva padrão de IL-6 que variou de 25 ng/ml a 0,102 ng/ml. Todas as amostras de soro foram feitas em duplicata e seus resultados expressos em médias. As amostras de líquido sinovial não foram feitas em duplicata devido à limitação de material disponível, pois a maioria dos animais eram de pequeno porte. Amostras de animais saudáveis foram utilizadas como controle.

Análise estatística

Utilizou-se o software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) para estabelecer o coeficiente de Pearson entre as variáveis avaliadas.

4. RESULTADOS

A amostragem foi composta por 13 cães divididos em dois grupos, sendo 11 animais no grupo sintomático e 2 no grupo controle. Dentre eles 53,8% (7) eram fêmeas e 46,2% (6) eram machos, com idade média de 3,7 anos e peso médio de 5,69 Kg. Dentre as raças 30,8% (4) eram Yorkshire Terrier, 23% (3) Sem Raça Definida, 15,4% (2) Pinscher, 7,7% (1) Border Collie, 7,7% (1) Poodle, 7,7% (1) Chihuahua e 7,7% (1) Spitz Alemão.

Considerando o membro pélvico acometido 54,5% (6) dos animais apresentaram luxação patelar em membro pélvico direito e 45,5 (5) apresentaram luxação bilateral.

Os animais foram avaliados quanto aos graus de luxação, claudicação e osteoartrose, foi realizada a quantificação da VHS e dosagem de IL-6 no líquido sinovial e no soro. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

As frequências de distribuição dos graus de luxação patelar, claudicação e osteoartrose encontram-se nas Tabelas 1, 3 e 4 respectivamente.

Tabela 1. Frequência de distribuição dos graus de luxação patelar dos animais estudados.

GRAU LUXAÇÃO PATELAR	Nº ANIMAIS	%
0	2	15,4
1	2	15,4
2	3	23,1
3	4	30,8
4	2	15,4
TOTAL	13	100

FONTE: Acervo pessoal.

Tabela 2. Dados gerais de identificação dos animais estudados, classificação clínica, radiográfica e dados laboratoriais.

ANIMAIS	RAÇA	SEXO	IDADE	PESO (Kg)	GRAU	GRAU	GRAU	MEMBRO	VHS	IL-6 SORO	IL-6 LÍQUIDO
					LUX	CLAUD	OA	LUX	(mm/h)*	(ng/ml)	SINOVIAL (ng/ml)
1	SRD	F	1	14	0	0	0	-	0	<0,102	<0,102
2	Border Collie	F	4	20	0	0	0	-	0	<0,102	<0,102
3	SRD	M	7	14	2	1	1	MPD	1	<0,102	<0,102
4	Yorkshire	F	3	2,7	4	2	1	MPD	1	<0,102	0,16
5	Pinscher	F	2	1,5	3	2	0	MPD	3	<0,102	0,19
6	SRD	M	3	2,7	4	3	4	MPD	1	0,32	0,17
7	Pinscher	M	3	2	1	2	3	MPD	7	0,19	0,13
8	Poodle	M	2	2,85	3	2	2	Bilateral	5	<0,102	0,11
9	Chihuahua	M	8	3,5	3	3	2	Bilateral	1	<0,102	<0,102
10	Yorkshire	F	7	3,4	2	1	2	Bilateral	1	<0,102	0,16
11	Yorkshire	F	1	3,1	1	0	1	Bilateral	1	<0,102	0,20
12	Yorkshire	M	6	2,5	2	1	1	MPD	1	<0,102	0,17
13	Spitz	F	1	1,7	3	2	1	Bilateral	2	<0,102	0,12

SRD: Sem raça definida; M: Macho; F: Fêmea; Kg: quilograma; GRAU LUX: Grau de luxação patelar; GRAU CLAUD: Grau de claudicação; GRAU OA: Grau de osteoartrose; MEMBRO LUX: Membro pélvico luxado; MPD: Membro pélvico direito; VHS: Velocidade de hemossedimentação; mm/h: milímetros/hora; IL-6: Interleucina-6; ng/ml: nanogramas/mililitro.

*Valor de referência: < 10mm/h

FONTE: Acervo pessoal.

Tabela 3. Frequência de distribuição dos graus de claudicação dos animais estudados.

GRAU CLAUDICAÇÃO	Nº ANIMAIS	%
0	3	23,1
1	3	23,1
2	5	38,5
3	2	15,4
4	0	0,0
TOTAL	13	100

FONTE: Acervo pessoal.

Tabela 4. Frequência de distribuição dos graus de osteoartrose dos animais estudados.

GRAU OSTEOARTROSE	Nº ANIMAIS	%
0	3	23,1
1	5	38,5
2	3	23,1
3	1	7,7
4	1	7,7
TOTAL	13	100

FONTE: Acervo pessoal.

A quantificação da IL-6 foi baseada em curva padrão em que as concentrações variaram de 25 a 0,102 ng/ml (Gráfico 1). As leituras das absorbâncias foram feitas em duplicatas e calculou-se as médias entre elas. Também foi feito o desvio padrão, o coeficiente de variação e a correção com o branco (solução de concentração 0) para eliminar interferências externas para cada concentração (Tabela 5).

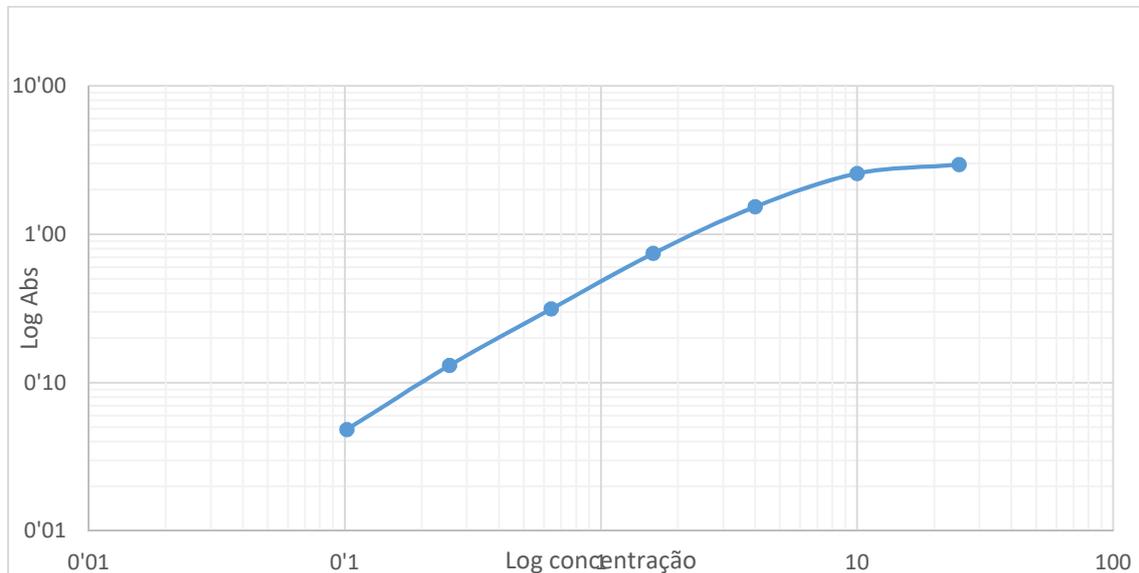
No grupo controle a quantificação da VHS apresentou-se dentro dos parâmetros normais e a IL-6 não foi detectada no soro e no líquido sinovial.

No grupo com luxação patelar a VHS também se apresentou dentro dos parâmetros normais. A IL-6 foi detectada no soro de dois cães (concentrações de 0,19 e 0,32 ng/ml) e na dosagem no líquido sinovial sua detecção não foi possível em dois animais.

Tabela 5. Tabulação da curva padrão de IL-6.

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

IL-6: Interleucina-6; ng/ml: nanogramas/mililitros; CV: Coeficiente de variação. FONTE: Acervo pessoal.

Gráfico 1. Curva padrão de IL-6.

IL-6: Interleucina-6; Abs: Absorbância; Log: Logaritmo. FONTE: Acervo pessoal.

Para os animais do grupo sintomático foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis avaliadas. Esse coeficiente tem uma variação de -1 a +1 demonstrando que se o r for positivo, há relação direta entre as variáveis e, se o r for negativo há uma relação inversa entre as variáveis. Fez-se também o teste de significância desse coeficiente ($p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$).

A correlação entre a VHS, a IL-6 e os graus de luxação, claudicação e osteoartrose foram avaliados, correlacionados dois a dois (Tabela 6).

Observou-se uma correlação muito forte e significativa ($r=0,83$ e $p < 0,01$) entre a dosagem de IL-6 no soro e o grau de osteoartrose.

A IL-6 no soro também apresentou uma correlação positiva moderada com o grau de claudicação, mas não significativa (13% de probabilidade de erro).

Houveram correlações fracas ou praticamente nulas entre a VHS e o graus de luxação, claudicação e osteoartrose; entre a dosagem de IL-6 no líquido sinovial e os graus de luxação, claudicação e osteoartrose; entre a dosagem de IL-6 no soro e o grau de luxação. As mesmas também não obtiveram significância.

Tabela 6. Correlação de Pearson das variáveis avaliadas.

CORRELAÇÃO DE PEARSON	GRAU LUXAÇÃO	GRAU CLAUDICAÇÃO	GRAU OSTEOARTROSE
VHS	-0,28*	0,19*	0,25*
IL-6 LÍQUIDO SINOVIAL	-0,07*	-0,37*	-0,18*
IL-6 SORO	0,25*	0,48***	0,83**

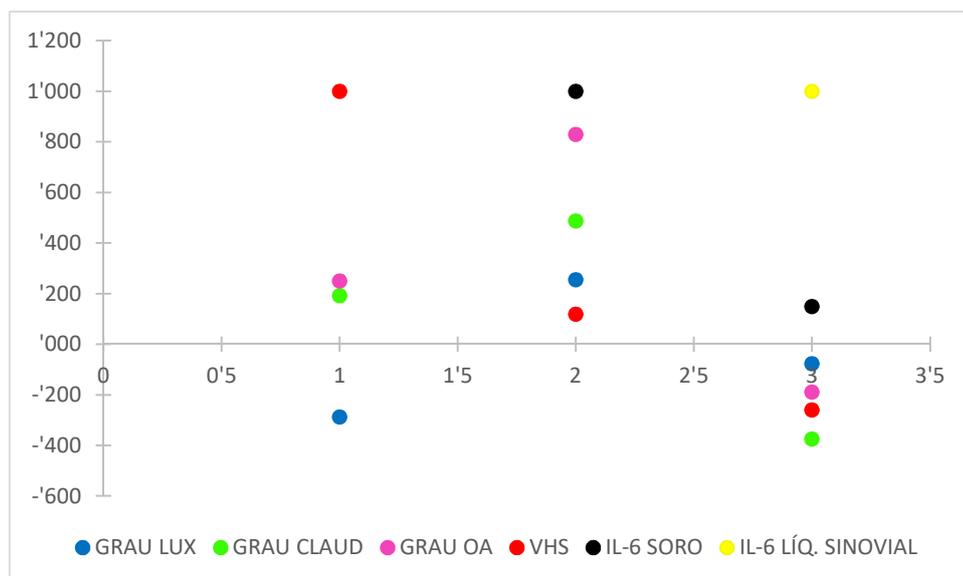
*Não significativo

**Significativo $p < 0,01$

***Correlação moderada com 13% de probabilidade de erro

VHS: Velocidade de Hemossedimentação; IL-6: Interleucina-6. FONTE: Acervo pessoal.

Gráfico 2. Gráfico de dispersão dos coeficientes de correlação de Pearson.



GRAU LUX: Grau de luxação; GRAU CLAUD: Grau de claudicação; GRAU OA: Grau de osteoartrose; VHS: Velocidade de Hemossedimentação, IL-6: Interleucina-6; LÍQ. SINOVIAL: Líquido sinovial. FONTE: Acervo pessoal.

5. DISCUSSÃO

A luxação patelar é uma das afecções ortopédicas mais comuns que acometem a articulação fêmoro-tíbio-patelar dos cães. Os animais de pequeno porte são os mais acometidos por essa enfermidade (SLATTER, 2007, DECAMP et al., 2016). Segundo Souza et al. (2009) a condição é frequentemente diagnosticada em cães das raças Poodle, Yorkshire Terrier, Spitz Alemão, Pinscher e Shih Tzu. Nesse experimento aproximadamente 72% dos cães eram de pequeno porte, encontrando-se entre eles animais das raças Yorkshire, Pinscher, Poodle, Spitz Alemão, Chihuahua e SRD. Os dados de ambos os estudos são semelhantes provavelmente pelo fato dessas raças serem comuns na população canina brasileira.

Cães de qualquer idade e sexo podem apresentar a patologia (FOSSUM, 2008), porém as fêmeas apresentam um risco maior do que os machos, correspondente a uma vez e meia ou mais (PRIESTER, 1972; ALAM et al., 2007). Neste estudo, considerando o grupo de cães com luxação, 54,5% eram machos e 45,5% eram fêmeas, diferindo dos relatos de Souza et al. (2009), Andrade (2014), Galeazzi (2015) e Nilsson et al. (2018) em que as fêmeas foram mais acometidas. Lavrijsen et al. (2013) argumentaram que cães machos tendem a ter um melhor desenvolvimento muscular, o que promoveria uma maior estabilidade da articulação do joelho.

A luxação patelar pode ser uni ou bilateral. No grupo sintomático observou-se 54,5% de luxação em membro pélvico direito e 45,5% de luxação bilateral, corroborando com os estudos feitos por Gibbons et al. (2006), Arthurs e Langley-Hobbs (2006), Alam et al. (2007) e Linney et al. (2011) os quais também demonstraram probabilidades de aproximadamente 50% para cada tipo de acometimento. Porém outros relatos demonstraram uma incidência de até 93% de luxação patelar bilateral (CLERFOND et al., 2014; WANGDEE et al., 2017). Esta variação nos resultados suporta a condição do envolvimento de fatores genéticos na enfermidade, que pode acometer uma ou ambas as articulações.

A claudicação é o sinal clínico mais relatado pelos tutores, que também podem observar resistência ao exercício físico de alta intensidade e ao salto (LARA et al., 2013; PIERMATTEI et al., 2016). No experimento 77% dos cães apresentaram algum

grau de claudicação, sendo o grau 2 (claudicação moderada) o de maior prevalência representando 38,5% dos animais, seguido pelo grau 1 (claudicação leve ou intermitente) com 23,1% dos animais.

A luxação de grau III (30,8% dos animais), assim como nos estudos de Andrade (2014) e Galeazzi (2015), foi a mais observada, condição na qual a patela permanece deslocada a maior parte do tempo, mas pode ser reduzida manualmente com a extensão do joelho; em alguns casos o apoio do membro ocorre com o joelho semiflexionado (FOSSUM, 2008; PIERMATTEI et al., 2009). A luxação de grau II foi a segunda de maior prevalência representando 23,1% dos cães.

Os resultados diferem dos estudos de Gibbons et al. (2006), Lara et al. (2013), Wangdee et al. (2017) e Lara et al. (2018) nos quais a luxação de grau II foi a mais prevalente, condição que geralmente cursa com claudicação intermitente e podem haver alterações anatômicas. Portanto, é nesse estágio da doença que normalmente os tutores observam ou dão maior importância à claudicação e procuram ajuda médica (LARA et al., 2013). A diferença em relação aos relatos publicados pode ser atribuída à falta de informação dos proprietários sobre a doença, levando a um atraso no diagnóstico por parte do clínico e conseqüente avanço da patologia; à falta de poder monetário, causando uma demora na procura de tratamento adequado ou tentativas de tratamento conservativo.

O grau da luxação nem sempre corresponde aos sinais clínicos, porém sua classificação é útil no monitoramento da progressão da afecção em um paciente jovem, assintomático, ou no planejamento cirúrgico (DENNY e BUTTERWORTHY, 2006). O presente estudo discorda dos autores, pois foi observada relação entre os graus de luxação e claudicação. Mais de 80% dos animais apresentaram maiores graus de claudicação (observados clinicamente) devido aos maiores graus de luxação.

O diagnóstico definitivo da luxação patelar é feito durante o exame físico pelos métodos de observação e palpação. Porém a radiografia é uma ferramenta que pode ajudar na confirmação do diagnóstico clínico pela exclusão de outras causas de claudicação do joelho, e também demonstrando as deformidades ósseas e a presença ou não de osteoartrose (DENNY e BUTTERWORTHY, 2006; SCHULZ, 2013).

A OA é um processo degenerativo articular de evolução lenta, não infeccioso, de grande relevância clínica e importante morbidade. É uma condição que causa desde lesão na cartilagem a alterações proliferativas e degenerativas nos tecidos adjacentes. Em humanos é responsável por enormes danos econômicos e sociais aos pacientes (GOLDRING e GOLDRING, 2007; TAYLOR, 2009).

Na Medicina a degeneração articular é frequentemente observada a partir da 4ª década da vida. Em cães o acometimento do joelho é mais evidente aproximadamente aos cinco anos (POWERS et al., 2005). No presente estudo os animais que apresentaram graus importantes de OA tinham idade média de 4,6 anos. Os animais mais velhos (entre 6 e 8 anos) apresentaram graus 1 e 2 de OA, enquanto que os cães com maior comprometimento articular, com graus 3 e 4, tinham 3 anos de idade. Isto pode ser explicado pelo fato de que animais idosos são menos ativos, o que causa menores impactos nas articulações, levando a menores estímulos biomecânicos que podem induzir o processo inflamatório, agravando a osteoartrose.

Também foi observada uma prevalência de 77% de algum grau de OA entre os cães, o que evidencia sua importância clínica. O grau 1 foi o de maior incidência, representando 38,5% dos animais.

A osteoartrose pode ser classificada como primária quando está relacionada a distúrbios de envelhecimento orgânico natural, sem causa definida, ou como secundária em resposta a alterações que causem instabilidade articular como fraturas, luxação de patela, ruptura de ligamento cruzado cranial (MONTANHA et al., 2013).

Apesar de uma grande incidência de OA entre os animais estudados, sua gravidade não estava relacionada ao grau de luxação patelar. Foi observado, por exemplo, um cão com uma luxação grau IV e osteoartrose grau 1; e outro com luxação grau I e OA grau 3. Também não houve correlação estatística significativa entre as variáveis. Estes resultados reafirmam Davidson e Kerwin (2014) que dizem que o grau de OA não está associado aos graus de luxação e claudicação.

A patogênese da OA ainda é incerta, mas acredita-se que envolva processos como estresse oxidativo, inflamação, osteoclastogênese e degradação proteolítica da cartilagem (AKURI et al., 2017). Fatores desencadeantes, como traumas ou instabilidades articulares, geram uma sinovite e consequente liberação de citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1, TNF, IL-6, IL-10 e quimiocinas, como a CCL2/MCP-

1 (proteína quimioatraente de macrófagos) (FULLER e HIROSE-PASTOR, 2000; BRUIN et al., 2005; FUJITA et al., 2005; GOLDRING e GOLDRING, 2007).

O excesso de citocinas inflamatórias e proteases no líquido sinovial induz a morte de condrócitos e promove a estimulação dos sinoviócitos, os quais secretam citocinas e recrutam fatores mononucleares e polimorfonucleares, cooperando para a destruição da cartilagem articular (AKURI et al., 2017).

A progressão da doença ocorre pela degradação enzimática da cartilagem. Quando o osso subcondral é exposto ocorre a formação de osteófitos, esclerose subcondral e posterior fibrose da cápsula articular (TAYLOR, 2009).

A IL-6 é uma das citocinas inflamatórias que influenciam na OA pois a mesma tem ação nos condrócitos, promovendo a diminuição da produção de colágeno tipo II, colaborando para a degradação da cartilagem (LIMAGNE et al., 2016).

Neste estudo foi feita a dosagem sérica e no líquido sinovial de IL-6 pois sua concentração aumenta em processos inflamatórios.

No líquido sinovial a interleucina-6 foi identificada em nove animais, sendo que sua concentração variou de 0,11 a 0,20 ng/ml. Porém quando correlacionada aos graus de luxação, claudicação, osteoartrose, ao VHS e a dosagem de IL-6 no soro, não foi estatisticamente significativa. Este experimento concorda com os realizados em humanos por Sohn et al. (2012) e Machado (2015) os quais relataram que os níveis séricos e sinoviais de citocinas inflamatórias, como a IL-6, são maiores em pacientes com a condição. Até o momento não foram encontradas informações em cães com a mesma enfermidade.

A dosagem de biomarcadores no líquido sinovial necessita de métodos invasivos de coleta, acrescentando custos e riscos de infecção iatrogênica. Além disso, muitas vezes não se consegue quantidade suficiente de líquido para a análise. Porém em um estudo realizado por Rennó et al. (2019) foi feita a coleta do líquido sinovial para análise parasitológica para diagnóstico de leishmaniose visceral canina em animais sintomáticos, e a técnica foi indicada como uma ferramenta de baixo custo e de fácil performance que pode ser empregada em clínicas e hospitais veterinários.

No soro a IL-6 foi detectada em dois animais com concentrações de 0,19 e 0,32 ng/ml. Estatisticamente não foi observada relação com os graus de luxação, claudicação e com o VHS. Porém houve uma correlação muito forte e positiva com o

grau de osteoartrose, demonstrando que quanto maior o grau de OA, maior a concentração sérica de IL-6. Entretanto a representatividade dos animais foi somente de 18,2%, dificultando a assertiva da utilização do teste como marcador inflamatório seguro e comprobatório da OA na luxação patelar.

Os dados da literatura quanto à dosagem sérica de IL-6 em cães ainda são escassos. Alguns estudos demonstraram o aumento de sua concentração em animais com sobrepeso (FRANK et al., 2015), com tumores mamários malignos não inflamatórios (DE ANDRÉS et al., 2013) e a sua detecção em cães com leishmaniose visceral (LIMA et al., 2007).

A detecção da IL-6 no soro em humanos ainda não tem seu uso corrente padronizado. Embora tenha uma especificidade entre 91 e 95%, sua sensibilidade varia de 47 a 97% nos diferentes estudos. Sendo assim, seu uso não é rotineiro, uma vez que os resultados possuem discrepâncias na literatura e também é um exame que possui maior custo quando comparado a VHS (GOMES, 2019).

Os biomarcadores sanguíneos tem por objetivo retratar quantitativamente a resposta do organismo ao processo inflamatório/infeccioso subjacente. A VHS expressa apenas a velocidade com que as hemácias se precipitam, o que confere baixa especificidade ao teste (SHAHI et al., 2017).

Na rotina laboratorial Veterinária a VHS é determinada principalmente pelo método de Wintrobe. Na Medicina humana o método padrão é baseado na técnica descrita por Westergren (VECINA, 2009). Neste estudo a técnica utilizada foi a preconizada por Westergren, sem diluição e em tubo com EDTA. O material coletado também foi utilizado para a realização do hemograma, que apresentou dados dentro dos critérios normais para os dois grupos.

Em cães é um teste utilizado na avaliação clínica. Sua elevação está relacionada com processos infecciosos agudos, inflamatórios localizados (pleurites, pericardites, peritonites), traumáticos (cirurgias em geral), neoplásicos, nefropatias terminais e à gestação (VECINA, 2009).

Sabe-se que a VHS reflete o aumento da concentração plasmática das PFA e pode ser influenciada se houver anemia e alterações morfológicas nos eritrócitos (COLLARES e VIDIGAL, 2004). É um teste bastante acessível, prático e de baixo custo. Para que tenha valor diagnóstico é necessário um valor de referência que

estabeleça um padrão de normalidade e, conseqüentemente, anormalidade (VALADAS et al., 2019). Foram considerados normais valores menores que 10 mm/h.

No experimento os resultados da VHS se encontraram dentro dos parâmetros normais para todos os animais avaliados e não foram observadas alterações hematológicas que pudessem interferir nos mesmos. Indicando que não haviam processos inflamatórios que pudessem ser detectados pelo teste.

6. CONCLUSÃO

Com os dados obtidos na pesquisa encontrou-se correlação positiva entre a dosagem da IL-6 no soro e o grau de OA, indicando um possível biomarcador inflamatório para a condição. A IL-6 foi detectada no líquido sinovial de 81,8% dos cães estudados, demonstrando processo inflamatório ativo na luxação de patela. A VHS não demonstrou alteração ou correlação significativa em cães com luxação patelar, sendo um biomarcador ineficaz para a doença.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULKHALEQ, L. A.; ASSI, M. A.; ABDULLAH, R.; ZAMRI-SAAD, M.; TAUFIQ-YAP, Y. H.; HEZMEE, M. N. M. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World*. v.11, n.5, p.627-635, 2018.
- AKURI, M. C.; BARBALHO, S. M.; VAL, R. M.; GUIGUER, E. L. Reflections about osteoarthritis and Curcuma longa. *Pharmacognosy Reviews*. v.11, n.21, p.8-12, 2017.
- ALAM, M. R.; LEE, J. I.; KANG, H. S.; KIM, I. S.; PARK, S. Y.; LEE, K. C.; KIM, N. S. Frequency and distribution of patellar luxation in dogs – 134 cases (2000 to 2005). *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. v.20, n.1, p.59-64, 2007.
- ALAM, M. R.; LEE, H. B.; KIM, M. S.; KIM, N. S. Surgical model of osteoarthritis secondary to medial patellar luxation in dogs. *Veterinarni Medicina*. v.56, p.123-130, 2011.
- ANDRADE, A. M. C. S. Prevalência da patologia luxação de patela em cães. 105f. Tese de Mestrado da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Faculdade de Medicina Veterinária – Lisboa, 2014.
- AOKI, T.; NARUMIYA, S. Prostaglandins and chronic inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences*, v.33, n.6, p.304–311, 2012.

- ARTHURS, G. I.; LANGLEY-HOBBS, S. J. Complications associated with corrective surgery for patellar luxation in 109 dogs. *Veterinary Surgery*. v.35, n.6, p.559-566, 2006.
- BENNETT, D. Canine and feline osteoarthritis. In: Ettinger, S. J. & Feldman, E. C., *Textbook of Veterinary Internal Medicine – Diseases of the Dog and Cat*. 7 ed. Saunders Elsevier, p.5067-5126, 2010.
- BOUND, N.; ZAKAI, D.; BUTTERWORTH, S. J.; PEAD, M. The prevalence of canine patellar luxation in three centres. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. v.22, p.32-37, 2009.
- BRUIN, T.; ROOSTER, H.; BREE, V. E. Interleukin-8 mRNA expression in synovial fluid of canine stifle joints with OA. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.108, p.387-397, 2005.
- CAMEJO, F. A.; AZEVEDO, M.; AMBROS, V.; CAPORAL, K. S. T.; DOETZER, A. D.; ALMEIDA, L. E.; OLANDOSKI, M.; NORONHA, L.; TREVILATTO, P.C. Interleukin-6 expression in disk derangement of human temporomandibular joint and association with osteoarthrosis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. v.45, n.5, p.768-744, 2017.
- CHAMUSCA, F. V.; REIS, S. R. A.; LEMAIRE, D.; MEDRADO, A. P. Mediadores do efeito sistêmico do processo inflamatório e terapias fotobiomoduladoras: uma revisão de literatura. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*. v.11, n.1, p.70-78, 2012.
- CLERFOND, P.; HUNEAULT, L.; DUPUIS, J.; MOREAU, M.; AUGER, J. Unilateral or single-session bilateral surgery for correction of medial patellar luxation in small dogs: short and long-term outcomes. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. v.27, n.6, p.484-490, 2014.
- COIMBRA IB, PASTOR EH, GREVE JMD. Osteoartrite (artrose): tratamento. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v.44, n.6, p.450-453, 2004.
- COLLARES, G. B.; VIDIGAL, P. G. Recomendações para o uso da velocidade de hemossedimentação. *Revista Médica de Minas Gerais*. v.14, n.1, p.46-52, 2004.
- COPPIETERS E, SEGHERS H, VERHOEVEN G. Arthroscopic, computed tomography, and radiographic findings in 25 dogs with lameness after arthroscopic treatment of medial coronoid disease. *Veterinary Surgery*, v.45, p.246–253, 2016.
- CRUVINEL, W. M.; JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; 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. *Revista Brasileira de Reumatologia*. v.50, n.4, p.434-461, 2010.
- DAVIDSON, J. R.; KERWIN, S. Common orthopedic conditions and their physical rehabilitation. In: MILLIS, D.; LEVINE, D. (Eds.). *Canine rehabilitation and physical therapy*. 2 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014.
- DE ANDRÉS, P. J.; ILLERA, J. C.; CÁCERES, S.; DÍEZ, L.; PÉREZ-ALENZA, M. D.; PEÑA, L. Increased level of interleukins 8 and 10 as findings of canine inflammatory

mammary cancer. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.152, n.3-4, p.245-251, 2013.

DECAMP, C.E.; JOHNSTON, S.A.; DÉJARDIN, L.M.; SCHAEFER, S.L. Brinker, Piermattei and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair. 5 ed. Saint Louis: Elsevier, cap.18, p.597-616, 2016.

DENNY, H. R.; BUTTERWORTH, S. J. Cirurgia Ortopédica em Cães e Gatos. 3 ed. São Paulo: Roca, p.30-37, 396-406, 2006.

ECHIGO, R.; MOCHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; SASAKI, N. Suppressive effect of hyaluronan on chondrocyte apoptosis in experimental induce acute osteoarthritis in dogs. *Journal of Veterinary Medicine Science*. v.68, n.8, p.899-902, 2006.

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 (VHS) pelo método de Westergren automatizado. *Electronic Journal of Pharmacy*. v.12, p.62-63, 2015.

FARESE, J. P. Patellar luxation: surgical techniques. In: *Small Animal Orthopedics In The North American Veterinary Conference*, p.893-895, 2006.

FERGUSON, J. Patellar luxation in the dog and cat. In *Practice*. v.19, p.174-184, 1997.

FILHO, J. G. P.; NETO, F. A. D., DÓREA, H. C.; SANCHES, R. C.; CANOLA, J. C. Treatment of the lateral patellar luxation in toy poodles. *Ciência Rural*. v.35, n.4, p.843-847, 2005.

FOSSUM, T. W. Cirurgia de Pequenos Animais. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.930-1315, 2008.

FRANK, L.; MANN, S.; LEVINE, C. B.; CUMMINGS, B. P.; WAKSHLAG, J. J. Increasing body condition score is positively associated interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 in Labrador retrievers. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.167, p.104-109, 2015.

FUJITA, Y.; HARA, Y.; NEZU, Y.; YAMAGUCHI, S.; SCHULZ, K. S.; TAGAWA, M. Direct and indirect markers of cartilage metabolism in synovial fluid obtained from dogs with hip dysplasia and correlation with clinical and radiographic variables. *American Journal of Veterinary Research*. v.66, n.12, p.2028-2033, 2005.

FULLER, R.; HIROSE-PASTOR, E. Osteoartrose. In: Yoshinari, N. H.; Bonfá, E. D. O. *Reumatologia para o clínico*. São Paulo: Roca, p.139-148, 2000.

GALEAZZI, V. S. Mensuração do eixo mecânico e determinação do alinhamento do membro pélvico em cães com luxação de patela: estudo radiográfico no plano frontal e correlação com a fisiopatologia da doença. Dissertação. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – São Paulo, 2015.

GARCIA, J. B. S.; ISSY, A. M.; SAKATA, R. K. Citocinas e anestesia. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. v.52, v.1, p.86-100, 2002.

- GIBBONS, S. E.; MACIAS, C.; TONZING, M. A.; PINCHBECK, G. L.; MCKEE, W. M. Patellar luxation in 70 large breed dogs. *Journal of Small Animal Practice*. v.47, p.3-9, 2006.
- GOLDRING, M. B.; GOLDRING, S. R. Osteoarthritis. *Journal of Cell Physiology*. v.213, p.626-634, 2007.
- GOLDRING, M. B. Articular cartilage degradation in osteoarthritis. *American Heart Hospital Journal*. v.8, p.7-9, 2012.
- 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. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro*, v.22, n.6, p.398–403, 2009.
- GOMES, L. S. M. Diagnóstico precoce da infecção articular periprotética do quadril – situação atual, avanços e perspectivas. *Revista Brasileira de Ortopedia*. v.54, n.4, p.368-376, 2019.
- GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J.; NIEWOLD, T. A.; KOOPMANS, S. J.; VAN DIJK, E.; MELOEN, R. H. Monitoring health by values of acute phase proteins. *Acta Histochemica*. v.108, n.3, p.229-232, 2006.
- HAYES, A. G.; BOUDRIEAU, R. J.; HUNGERFORD, L. L. Frequency and distribution of medial and lateral patellar luxation in dogs: 124 cases (1982-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v.205, p.716-720, 1994.
- HULSE, D. A.; JOHNSON, A. L. Luxação patelar lateral. *Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: Roca, p.1086, 2003.
- INNES, J. F. Arthritis. In: Tobias, K. M. & Johnston, S.A. *Veterinary Surgery Small Animal*. 1 ed. St Louis – Missouri: Elsevier, p.1078-1111, 2012.
- JAIN, N.C. The dog: Normal hematology with comments on response to disease. In: Schalm's *Veterinary Hematology*. 3 ed. Philadelphia – USA: Lea & Febiger, p.103-125, 1975.
- KOWALESKI, M. P.; BOUDRIEAU, R. J.; POZZI, A. Stifle joint. In: Tobias, K.M. & Johnston, S.A. *Veterinary Surgery Small Animal*. 1 ed. Elsevier/Saunders, 2012.
- KRAUS, K. H. Surgical Management of Patellar Luxation in Dogs. Comunicação apresentada em: Nebraska Veterinary Medical Association 117th Annual Convention, 2013.
- KYOSTIO-MOORE, S.; BANGARI, D. S.; EWING, P.; NAMBIAR, B.; BERTHELETTE, P.; SOOKDEO, C.; HUTTO, E.; MORAN, N.; SULLIVAN, J.; MATTHEWS, G. L.; SCARIA, A.; ARMENTANO, D. Local gene delivery of heme oxygenase-1 by adeno-associated virus into osteoarthritic mouse joints exhibiting synovial oxidative stress. *Osteoarthritis and Cartilage*. v.21, n.2, p.358-367, 2013.
- LA FOND, E.; BREUR, G. J.; AUSTIN, C. C. Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. v.38, p.467-477, 2002.

- LARA, J. S.; OLIVEIRA, H. P.; ALVES, E. G. L.; SILVA, R. F.; RESENDE, C. M. F. Aspectos clínicos, cirúrgicos e epidemiológicos da luxação de patela em cães atendidos no Hospital Veterinário no período de janeiro de 2000 a julho de 2010: estudo retrospectivo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.65, n.5, p.1274-1280, 2013.
- LARA, J. S.; ALVES, E. G. L.; OLIVEIRA, H. P.; VARÓN, J. A.C.; REZENDE, C. M.F. Patellar luxation and articular lesions in dogs: a retrospective study research article. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.70, n.1, p.93-100, 2018.
- LAVRIJSEN, I. C. M.; HEUVEN, H. C. M.; BREUR, G. J.; LEEGWATER, P. A. J.; MEUTSTEGE, F. J.; HAZEWINDEL, H. A. W. Phenotypic and genetic trends of patellar luxation in Dutch Flat-coated retrievers. *Animal Genetics*. v.44, p.736-741, 2013.
- LIMA, V. M. F.; PEIRÓ, J. R.; VASCONCELOS, R. O. IL-6 and TNF- α production during active canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.115, p.189-193, 2007.
- LIMAGNE, E.; LANÇON, A.; DELMAS, D.; CHERKAOUI-MALKI, M.; LATRUFFE, N. Resveratrol interferes with IL-1- β -induced pro-inflammatory paracrine interaction between primary chondrocytes and macrophages. *Nutrients*. v.8, n.5, p.E280, 2016.
- LINDLEY, S., WATSON, P. *BSAVA Manual of canine and feline rehabilitation, supportive and palliative care: case studies in patient management*. Wiley, Gloucester, p.416, 2010.
- LINNEY, W. R.; HAMMER, D. L.; SHOTT, S. Surgical treatment of medial patellar luxation without femoral trochlear groove deepening procedures in dogs: 91 cases (1998 – 2009). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v.238, p.1168-1172, 2011.
- LOESER, R. F. Osteoarthritis year in review 2013: biology. *Osteoarthritis Cartilage*. v.21, p.1436-1442, 2013.
- MACHADO, C. R. L. Estudo funcional *in vitro* de fibroblastos sinoviais de pacientes com artrite reumatoide, osteoartrite e grupo controle após estimulação com diferentes concentrações de TNF- α , interleucina-1 beta e interleucina-33. Dissertação. 67f. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, 2015.
- MALFAIT, A. M.; SCHNITZER, T. J. Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. v.9, p.654-664, 2013.
- MARINO DJ, LOUGHIN CA. Diagnostic Imaging of the Canine Stifle: A Review. *Veterinary Surgery*, v.39, p.284–295, 2010.
- MEASE, P. J.; HANNA, S.; FRAKES, E. P.; ALTMAN, R. D. Pain mechanisms in osteoarthritis: understanding the role of central pain and current approaches to its treatment. *The Journal of Rheumatology*. v.38, p.1546-1551, 2011.
- MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Jr. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunological Reviews*. v.173, p.89-97, 2000.

- MERISIO, P. R.; ALFF, F. A. Comparativo das técnicas do exame de velocidade de hemossedimentação (VHS) descrita por Westergren com citrato e a usual com EDTA. *NewsLab*. v.120, p.76-80, 2013.
- MILLIS DL, LEVINE D. *Canine rehabilitation and physical therapy*. Second edition. Saunders, Philadelphia, p.784, 2014.
- MONTANHA, F. P.; SOBRAL, N. C.; ALVES, M. B.; GHINELLI, M. O.; AMALFI, M. I. Doença degenerativa em um cão da raça labrador retriever – relato de caso. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, FAEF – São Paulo, Ano XI*. n.20, 2013.
- MORRIS, M. W.; DAVEY, F. R. Basic examination of blood. In: Henry, J. B. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 20 ed. Philadelphia: WB Saunders, p.515-519, 2001.
- MOSHER T. J., WALKER E. A., PETSCAVAGE-THOMAS J.; GUERMAZI, A. Osteoarthritis year 2013 in review: imaging. *Osteoarthritis and Cartilage*, v.21, n.10, p.1425-1435, 2013.
- NILSSON, K.; ZANDERS, S.; MALM, S. Heritability of patellar luxation in the Chihuahua and Bichon Frise breeds of dogs and effectiveness of a Swedish screening programme. *The Veterinary Journal*. v.234, p.136-141, 2018.
- NISHIMOTO, N.; KISHIMOTO, T.; YOSHIZAKI, K. Anti-interleukin 6 receptor antibody treatment in rheumatic disease. *Annals of the Rheumatic Diseases*. v.59, p.i21-i27, 2000.
- O'NEILL, D. G.; MEESON, R. L.; SHERIDAN, A.; CHURCH, D. B.; BRODBELT, D. C. The epidemiology of patellar luxation in dogs attending primary-care veterinary practices in England. *Canine Genetics and Epidemiology*. v.3, p.4, 2016.
- PAHWA, R.; JIALAL, I. Chronic inflammation. *StatPearls*, 2018.
- PÉREZ, P.; LAFUENTE, P. Management of medial patellar luxation in dogs: what you need to know. *Veterinary Ireland Journal*. v.4, n.12, p.634-640, 2014.
- PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*. v.35, n.2, p.163-187, 2004.
- PIERMATTEI, D.; FLO, G.; DECAMP, C. Brinker, Piermattei and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedic and Fracture Repair. 4 ed. Elsevier INC, p.10-12, 562-582, 2006.
- PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DECAMP, C. A articulação do joelho. In: Brinker, Piermattei e Flo, *Ortopedia e Tratamento de Fraturas de Pequenos Animais*. 4 ed. São Paulo: Manole, p.637-717, 2009.
- PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; BRINKER, O. Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair. 5 ed. St. Louis: Elsevier, p.880, 2016.
- POLUHA, R. L.; GROSSMANN, E. Mediadores inflamatórios relacionados às disfunções temporomandibulares artrogênicas. *Brazilian Journal of Pain*. v.1, n.1, p.2595-3192, 2018.

- POWERS, M. Y.; MARTINEZ, S. A.; LINCOLN, J. D.; TEMPLE, A. A. Prevalence of cranial cruciate ligament rupture in a population of dogs with lameness previously attributed to hip dysplasia: 369 cases (1994 – 2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v.227, p.1109-1111, 2005.
- PRIESTER, W. A. Sex, size, and breed as risk factors in canine patellar dislocation. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v.160, p.740-742, 1972.
- RENNÓ, M. C.; VASCONCELLOS, A. O.; SANTOS, R. R.; SILVA, R. O. S.; CARNEIRO, R. A.; PAES, P. R. O. Synovial fluid as an auxiliary diagnostic tool for different stages of canine visceral leishmaniasis. *Ciência Rural*. v.49, n.5, 2019.
- ROBINSON, W. H.; LEPUS, C. M.; WANG, Q; RAGHU, H.; MAO, R.; LINDSTROM, T. M.; SOKOLOVE, J. Low-grade inflammation as a key mediator of the pathogenesis of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. v.12, p.580-592, 2016.
- ROMERO, A.; MUNOZ, M.; RAMIREZ, G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the test 1 ESR System with the ICSH reference method and the Sedisystem 15. *Clinical Chemistry Laboratory Medicine*. v.41, p.232-237, 2003.
- ROUSH, J. K. Canine patellar luxation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. v.23, p.855-868, 1993.
- ROY, R. G.; WALLACE, L. J.; JOHNSTON, G. R.; WICKSTROM, S. L. A retrospective evaluation of stifle osteoarthritis in dogs with bilateral medial patellar luxation and unilateral surgical repair. *Veterinary Surgery*. v.21, p.475-479, 1992.
- RUBIO, C. P.; SCHMIDT, E. M. S.; SANTOS, G. J.; LIMA, A. F. M.; RODRIGUES, T. A.; DÁLIO, R. G.; BARBOSA, L. Acute phase response following ovariohysterectomy in female dogs. *Comparative Clinical Pathology*. v.24, n.4, p.797-804, 2014.
- SANTOS, V. M.; CUNHA, S. F. C.; CUNHA, D. F. Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. *Revista da Associação Médica Brasileira*. v.46, n.4, p.232-236, 2000.
- SANTOS, I. F. C. dos; ALBERTO, D. S. Proteínas de fase aguda em cães e gatos. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. v.17, n.1, p.55-62, 2014.
- SCHULZ, K. Disorders of the joints. In: FOSSUM, T. W. *Small Animal Surgery Textbook*. 4 ed. St. Louis: Elsevier, p.1640, 2013.
- SERIN, G.; ULUTAS, P. A. Measurement of serum acute phase proteins to monitor postoperative recovery in anoestrous bitches after ovariohysterectomy. *Veterinary Record*. p.20-22, 2010.
- SHAHI, A.; KHEIR, M. M.; TARABICHI, M.; HOSSEINZADEH, H. R. S.; TAN, T. L.; PARVIZI, J. Serum D-dimer test is promising for the diagnosis of periprosthetic joint infection and timing of reimplantation. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*. v.99, n.17, p.1419-1427, 2017.
- SINGLETON, W. B. The surgical correction of stifle deformities in the dog. *The Journal of Small Animal Practice*. v.10, n.2, p.59-69, 1969.

SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais. 3.ed. Barueri: Manole. v.2, cap.147, p.2122-2126, 2007.

SOHN, D. H.; SOKOLOVE, J.; SHARPE, O.; ERHART, J. C.; CHANDRA, P. E.; LAHEY, L. J.; LINDSTROM, T. M.; HWANG, I.; BOYER, K. A.; ANDRIACCHI, T. P.; ROBINSON, W. H. Plasma proteins present in osteoarthritic synovial fluid can stimulate cytokine production via toll-like receptor4. *Arthritis Research & Therapy*. v.14, n.1, p.R7, 2012.

SOUZA, M. M. D.; RAHAL, S. C.; OTONI, C. C.; MORTARI, A. C.; LORENA. S. E. R. S. Luxação de patela em cães: estudo retrospectivo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.61, n.2, p.523-526, 2009.

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

TIZARD, I.R. *Imunologia veterinária*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.21-25, 2014.

TOWLE, H. A.; GRIFFON, D. J.; THOMAS, M. W.; SIEGEL, A. M.; DUNNING, D.; JOHNSON, A. Pre and postoperative radiographic and computed tomographic evaluation of dogs with medial patellar luxation. *Veterinary Surgery*. v.34, n.3, p.265-272, 2005.

TUDURY, E. A.; FIGUEIREDO, M. L.; KEMPER, B.; ARAUJO, F. P.; CHIORATTO, R.; MARQUES, N. B.; FERNANDES, T. H. T. Desinserção proximal do músculo sartório na correção da luxação patelar medial graus III e IV em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.63, p.254-257, 2011.

VALADAS, J.; FOIGT, V.; RAUPP, W. A.; FREITAS, T. A. B.; ROTTA, L. Correlação entre os resultados de proteína C-reativa e velocidade de hemossedimentação. *Revista de Atenção à Saúde*. v.17, n.60, p.5-10, 2019.

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

WANGDEE, C.; LEEGWATER, P. A. J.; HEUVEN, H. C. M.; VAN STEENBEEK, F. G.; TECHAKUMPHU, M.; HAZEWINDEL, H. A. W. Population genetic analysis and genome-wide association study of patellar luxation in a Thai population of Pomeranian dogs. *Research in Veterinary Science*. v.11, p.9-13, 2017.

WARD, P. A. New approaches to the study of sepsis. *EMBO Molecular Medicine*. v.4, n.12, p.1234-1243, 2012.

YAN, D.; LIU, T. X.; LIU, B. Y.; WANG, L.; QIAN, Z. H.; CHENG, X. G.; LI, K. C. *Biomedical and Environmental Sciences*. v.30, n.3, p.194-203, 2017.

ZAMLI, Z.; BROWN, K. R.; SHARIF, M. Subchondral bone plate changes more rapidly than trabecular bone in osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. v.17, n.9, p.1496, 2016.

ZHUANG, C.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; XU, N. Oxidative stress in osteoarthritis and antioxidant effect of polysaccharide from angelica sinensis. *International Journal of Biological Macromolecules*. v.115, p.281-286, 2018.

ZUO, Q.; LU, S.; DU, Z.; FRIIS, T.; YAO, J.; CRAWFORD, R.; PRASADAM, I.; XIAO, Y. Characterization of nano-structural and nano-mechanical properties of osteoarthritic subchondral bone. *BMC Musculoskeletal Disorders*. v.17, p.367, 2016.