

SARA CRISTINA FERREIRA RAIMUNDO

**PROTEÍNA C-REATIVA COMO BIOMARCADOR
DA SÍNDROME DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
SISTÉMICA EM CÃES**

Orientadora: Professora Doutora Inês Viegas

Coorientadora: Mestre Ângela Martins

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

SARA CRISTINA FERREIRA RAIMUNDO

**PROTEÍNA C-REATIVA COMO BIOMARCADOR
DA SÍNDROME DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
SISTÉMICA EM CÃES**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 10 de Maio de 2017 com o Despacho de Nomeação de Júri nº 134/2017 com a seguinte composição:

Membros do Júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Sónia Campos

Orientadora: Professora Doutora Inês Viegas

Vogal: Professora Doutora Sofia Van Harten

Coorientadora: Mestre Ângela Martins

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço à Dr.^a Ângela Martins, não só, por todo o trabalho incansável que teve comigo ao longo deste período de estágio e de realização da tese, mas também por me ter ajudado quando tanto precisei. É algo pelo qual estarei eternamente grata. Vejo-a como uma pessoa extraordinária e foi pelo seu exemplo e influência que tomei a decisão de me tornar também médica veterinária. Obrigada por tudo!

Agradeço, também, à Dr.^a Inês Viegas por ter aceitado ser minha orientadora, por estar sempre disponível e por toda a sua ajuda ter sido essencial e imprescindível para a conclusão desta tese.

Agradeço a toda a equipa do HVA e CRAA pela ajuda prestada ao longo do meu estágio.

Agradeço aos meus colegas de estágio pelo apoio e companheirismo neste momento tão importante do curso.

Aos meus pais, em especial, um enorme e muito especial obrigada, à minha mãe, Rosa Ferreira. Sem o teu amor e dedicação, nada do que tenho na vida seria possível. “Sabes que estarei eternamente grata e que gosto muito de ti.”

Quero também agradecer ao meu namorado, Paulo Farias, por ter sido um grande pilar no meu percurso académico, por todas as noites que passou ao meu lado enquanto estudava, por todo o stress que aturou, por todo o desespero que atenuou e por sempre me encaminhar para a opção correta.

Agradeço aos meus amigos, Ana Carvalho, Marta Reis, Rita Cardoso, Teresa Batista, João Moreira, Francisco Brando e Catarina Meneses assim como a todos os que tive o prazer de conhecer e de me cruzar neste curso. Tornaram estes 6 anos intensos, maravilhosos e inesquecíveis. Foram muitas aventuras, muitas histórias, muitas noites de estudo, muitos exames e aulas. Um obrigada muito especial à “Tinga” e à “Besga” por tudo o que fizeram e continuam a fazer por mim.

Ao Nuno, pelas noites que passou, a manter-me acordada, para acabar esta tese e ao André pelos lembretes constantes. Foram aqueles amigos que me meteram na linha.

Por último, à minha Soneca, que me “mostrou” que a dedicação de um cão pode ter uma grandeza infinita.

Resumo

A síndrome de resposta inflamatória sistêmica é despoletada através de um estímulo inflamatório agudo, provocando assim uma resposta sistêmica do organismo. Esta síndrome afeta muitos dos doentes em urgências e em regime de internamento e pode apresentar índices de mortalidade e morbidade elevados, se não for efetuada uma identificação precoce e eficaz dos sinais clínicos, de modo a permitir ao médico veterinário iniciar uma terapêutica adequada ao doente.

A Proteína C-reativa é uma proteína de fase aguda que aumenta rapidamente a sua concentração sanguínea aquando de um estímulo infeccioso ou inflamatório, voltando ao seu nível basal assim que se reponha a homeostasia do organismo.

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo determinar se a Proteína C-reativa pode ser utilizada como um biomarcador para detetar precocemente a presença da síndrome de resposta inflamatória sistêmica, comparando-a com os biomarcadores inflamatórios mais usuais (lactato, contagem de leucócitos e tempos de coagulação, tempo tromboplastina ativada e tempo de protrombina).

A amostra deste estudo foi recolhida entre 1 de Outubro de 2015 a 1 de Abril de 2016, no Hospital Veterinário da Arrábida, sendo que compreende 28 cães de ambos os sexos, com idades abrangidas entre os 5 meses e os 16 anos e diferentes etiologias (organizadas em 4 grupos: urgências, cirurgias, doenças neoplásicas e doenças sistêmicas).

Os resultados encontrados determinam que, embora não tenha sido detetada uma relação significativa estatisticamente, existe uma maior proporção de casos de cirurgias, doenças sistêmicas e doenças neoplásicas com a PCR aumentada, enquanto que, relativamente á presença de SIRS, existe uma maior incidência de casos de medicina de urgências e doenças neoplásicas. Concomitantemente, neste estudo foi ainda determinado que o aumento de lactato pode ser um indicador fidedigno de mortalidade em animais com a Proteína C-reativa aumentada.

Os dados descritos permitem concluir que a Proteína C-reativa pode ser utilizada como um biomarcador da síndrome de resposta inflamatória sistêmica, se for utilizado em conjunto com outros biomarcadores inflamatórios, tendo em conta a forma como as diferentes etiologias estão relacionadas com a presença da síndrome de resposta inflamatória sistêmica.

Palavras chave: Proteína C-reativa, síndrome de resposta inflamatória sistêmica, cão, biomarcador, tempo de tromboplastina ativada, tempo de protrombina, lactato

Abstract

The systemic inflammatory response syndrome is triggered by an acute inflammatory stimulus, provoking a systemic response of the organism. This syndrome, which affects many patients in hospital admission and in emergencies, may present high mortality and morbidity rates, if the veterinarian can't perform an early and effective identification of clinical signs, in order to apply an appropriate therapy for the patient.

C-reactive protein is an acute phase protein that rapidly increases its concentration in blood during an infectious or inflammatory stimulus, returning to its basal level as soon as the body's homeostasis is restored.

In this context, the present study aims at the determination of a C-reactive protein can be used as a biomarker to detect early the presence of systemic inflammatory response syndrome, comparing it with the most common inflammatory biomarkers (lactate, white blood count and the coagulation times, activated thromboplastin time and prothrombin time).

The sample of this study was collected between October 1, 2015 and April 1, 2016, in Hospital Veterinário da Arrábida, including 28 dogs of both sex, aged between 5 months and 16 years and with different etiologies (organized in 4 groups: urgencies, surgeries, neoplastic diseases and systemic diseases).

The results in this study indicate that, although no statistically significant relationship was detected, there is a higher proportion of cases of surgeries, systemic diseases and neoplastic diseases with increased CRP, whereas, in relation to the presence of SIRS, there is a higher incidence of cases of urgencies and neoplastic diseases.

Alongside it was also determined that lactate increase could be a reliable indicator of mortality in animals with an increased C-reactive Protein.

The results obtain allow the conclusion that C-reactive protein can be used as a biomarker of systemic inflammatory response syndrome, if it's used together with other inflammatory biomarkers, considering how the different etiologies affects the presence of the systemic inflammatory response syndrome.

Key words: C-reactive protein, systemic inflammatory response syndrome, dog, biomarker, activated thromboplastin time, prothrombin time, lactate

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

AAG - Alfa 1- glicoproteína ácida

ACCP - *American College of Chest Physicians*

ACT - Tempo de Coagulação Ativado

ACTH - Hormona adrenocorticotrófica

ADN - Ácido desoxirribonucleico

APTT - Tempo tromboplastina ativada

AT- Atividade antitrombina

ARN- Ácido ribonucleico

CRAA - Centro de Reabilitação Animal da Arrábida

DAMP - Padrões moleculares associados ao dano

DCC - Doença cardíaca congestiva

DMVM - Doença mixomatosa da válvula mitral

ELISA - Teste de imunoabsorção enzimático

EPCR – Recetor endotelial da proteína C

FA – Frequência absoluta

Fc γ RI- recetor FC

FNT- α - fator de necrose tumoral

FR - Frequência relativa

FT - Fator de tecidual

HVA – Hospital Veterinário da Arrábida

IL-1 – Interleucina-1

IL-6 – Interleucina-6

IFAT - Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina

IFN- α - Interferon- α

ITAM- Motivo de ativação do imunorreceptor baseado em tirosina

ITIM- Motivo de inibição do imunorreceptor baseado em tirosina

IgM - Imunoglobulina M

IgG - Imunoglobulina G

LPS – Lipopolissacarídeo

MAC – Complexo de ataque á membrana

MARE - Meningite-arterite responsiva a esteroides

MFO - Múltipla falha orgânica

MIP - Proteína inibidora de macrófagos

NF- κ B – Proteína Rel

NLR - Nucleotide *binding oligomerization domain-like receptor*

PCR – Proteína C-reativa

PMAP- Padrões moleculares associados a patógenos

PCA - Proteína C ativada

PAC - Pneumonia adquirida na comunidade

PT- Tempo de protrombina

PFA- Proteínas de fase aguda

RFA - Resposta de fase aguda

RPLA- Aglutinação de látex reversa passiva

RRP - Recetor de reconhecimento de patógenos

SAA – Proteína amiloide sérica A

SCCM - *Society of Critical Care Medicine*

SDMO – Síndrome de disfunção de múltiplos órgãos

SOFA - Sequential Organ Failure Assessment

SIRS - Síndrome de resposta inflamatória sistémica

SRCA - Resposta compensatória anti-inflamatória

STAT3 - Signal transducer and activator of transcription 3

TRL - Recetor *Toll-like*

WBC - Contagem de glóbulos brancos/ leucograma

Índice geral

Agradecimentos	- 1 -
Resumo	- 2 -
Abstract	- 3 -
Abreviaturas, Siglas e Símbolos	- 4 -
Índice geral.....	- 6 -
Índice de Tabelas	- 9 -
Índice de Figuras.....	- 10 -
Índice de Gráficos	- 11 -
I. Descrição das atividades realizadas durante o período de estágio curricular.....	- 12 -
1. Descrição das atividades realizadas	- 12 -
2. Casuística.....	- 13 -
2.1. Distribuição da população por espécie animal.....	- 13 -
2.2. Áreas clínicas	- 13 -
2.2.1. Medicina de prevenção e profilaxia.....	- 14 -
2.2.2. Doença médica	- 14 -
2.2.3. Doença cirúrgica	- 15 -
2.2.4. Medicina de urgências	- 16 -
2.2.5 - Medicina física e de reabilitação animal	- 16 -
2.2.6. Exames complementares.....	- 17 -
II- Monografia	- 19 -
Introdução	- 19 -
1. Resposta de Fase Aguda	- 20 -
1.1. Mediadores inflamatórios – as citocinas	- 22 -
1.2. Proteínas de Fase Aguda.....	- 24 -
1.2.1. Aplicação das diferentes proteínas de fase aguda em medicina veterinária	- 25 -
2. Proteína C-Reativa	- 28 -
2.1. História	- 28 -

2.2.	Estrutura	- 29 -
2.2.1.	Pentraxinas	- 29 -
2.2.2.	Estrutura molecular da proteína c-reativa	- 29 -
2.2.3.	Ligações da molécula da proteína c-reativa.....	- 31 -
2.3.	Síntese e expressão da proteína c-reativa.....	- 32 -
2.4.	Função	- 34 -
2.4.1.	Ligação Proteína c-reativa a Cq1 e ativação do sistema complemento	- 34 -
2.4.2.	Recetores Fc γ R da proteína c-reativa e a estimulação da fagocitose	- 35 -
2.4.3.	Proteção contra infeções.....	- 36 -
2.5.	Métodos de deteção.....	- 37 -
2.5.1.	Testes de alta sensibilidade	- 37 -
2.6.	Variações fisiológicas dos valores da proteína c-reativa	- 39 -
2.6.3.	Género e gestação	- 40 -
2.6.4.	Variações diárias/ ritmo circadiano	- 40 -
2.6.5.	Variações ambientais	- 40 -
2.6.6.	Influência de fármacos	- 41 -
2.7.	Proteína c-reativa em diferentes espécies	- 41 -
2.8.	Diferentes doenças que afetam a concentração da proteína c-reativa.....	- 42 -
2.8.1.	Doenças inflamatórias e infecciosas	- 43 -
2.8.2.	Doenças do trato respiratório	- 44 -
2.8.3.	Doenças do trato gastrointestinal.....	- 45 -
2.8.4.	Doenças neurológicas e imunomediadas	- 45 -
2.8.5.	Doenças cardíacas.....	- 46 -
2.8.6.	Doenças neoplásicas	- 47 -
2.8.7.	Obesidade	- 49 -
2.9.	Aplicação clínica da proteína c-reativa.....	- 49 -
2.9.1.	Proteína c-reativa como diferenciador de piómetra e hiperplasia endometrial cística -	49 -

2.9.2. Proteína c-reativa em cirurgia	- 50 -
3. Síndrome de resposta inflamatória sistémica e sepsis	- 51 -
3.1. Síndrome de resposta inflamatória sistémica	- 51 -
3.2. Sepsis.....	- 53 -
3.3. A relação entre inflamação e coagulação	- 55 -
3.4. Relação da inflamação com os níveis de lactato e glucose.....	- 58 -
III- Proteína C-Reativa como indicador da síndrome de resposta inflamatória sistémica em cães.....	- 60 -
1. Objetivos.....	- 60 -
2. Materiais e métodos	- 60 -
2.1. População estudada.....	- 60 -
2.2. Critérios de seleção.....	- 62 -
2.3. Recolha e análise das amostras	- 62 -
3. Resultados.....	- 64 -
3.1. Análise estatística descritiva	- 64 -
3.2. Análise estatística inferencial	- 65 -
3.2.1. Síndrome de resposta inflamatória sistémica	- 65 -
3.2.2. Lactatémia.....	- 68 -
3.2.3. Proteína C-Reativa.....	- 72 -
3.2.4. Síndrome de Resposta Inflamatória sistémica e Proteína C-Reativa	- 73 -
4. Discussão	- 75 -
4. Conclusão	- 81 -

Índice de Tabelas

Tabela 1: Distribuição das espécies de animais apresentadas à consulta (FA e FR)	- 13 -
Tabela 2: Distribuição das diferentes áreas clínicas (FA e FR)	- 14 -
Tabela 3: Distribuição de casuística em medicina preventiva e profilaxia (FA e FR)	- 14 -
Tabela 4: Distribuição da casuística das diferentes especialidades da área de doença médica (FA e FR).....	- 15 -
Tabela 5: Distribuição da casuística registada relativamente á área de doença cirúrgica (FA e FR).....	- 16 -
Tabela 6: Distribuição da casuística relativa à medicina física e reabilitação animal (FA e FR-	17 -
Tabela 7: Distribuição da casuística relativamente aos métodos de diagnóstico utilizados (FA e FR).....	- 18 -
Tabela 8: Influência das citocinas na síntese das PFA.....	- 24 -
Tabela 9: Aumento da concentração sérica de PCR em diferentes doenças.....	- 44 -
Tabela 10: Classificação dos parâmetros clínicos para diagnóstico de SIRS segundo diferentes autores.....	- 52 -
Tabela 11: Escala <i>Sequential Organ Failure Assessment</i> adaptada à espécie canina	- 54 -
Tabela 12: Caraterísticas dos doentes incluídos no estudo.....	- 61 -
Tabela 13: Distribuição da amostra de acordo com as faixas etárias.....	- 65 -
Tabela 14: Distribuição da amostra de acordo com a etiologia apresentada	- 65 -
Tabela 15: Sobrevivência em presença ou ausência de SIRS	- 67 -
Tabela 16: Distribuição dos casos consoante a condição SIRS e PCR	- 73 -

Índice de Figuras

Figura 1: Diferentes reações que ocorrem na resposta de fase aguda no organismo	- 21 -
Figura 2: Estrutura pentamétrica da PCR.	- 30 -
Figura 3: Estrutura do complexo PCR-fosfocolina, sendo que, apenas se encontra representada uma das subunidades da molécula de PCR.	- 31 -
Figura 4: Os diversos ligandos da PCR.	- 32 -
Figura 5: Ilustração do imunoensaio baseado na técnica de permeabilidade magnética.	- 38 -
Figura 6: Descrição sumariada da relação existente entre a inflamação e a indução da coagulação.	- 56 -

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Distribuição dos animais apresentados à consulta por espécie	- 13 -
Gráfico 2: Frequência relativa de urgências por espécie	- 16 -
Gráfico 3: Etiologias em presença ou ausência de SIRS.....	- 66 -
Gráfico 4: Frequência Cardíaca em presença ou ausência de SIRS.....	- 66 -
Gráfico 5: Frequência Cardíaca em presença ou ausência de SIRS.....	- 67 -
Gráfico 6: Média de dias de internamento por grupo de lactatémia.....	- 68 -
Gráfico 7: Nível de PCR por grau de lactatémia	- 69 -
Gráfico 8: Média de PCR por grupo de lactatémia.....	- 70 -
Gráfico 9: Média de PT por grupo de lactatémia.....	- 70 -
Gráfico 10: Média de dias de internamento por grupo de lactatémia.....	- 71 -
Gráfico 11: Sobrevivência por grau de lactatémia	- 71 -
Gráfico 12: Nível de PCR por tipo de etiologia.....	- 72 -
Gráfico 13: Média de Frequência cardíaca em presença / ausência de SIRS / PCR.....	- 73 -
Gráfico 14: Média de frequência respiratória em presença / ausência de SIRS / PCR...	- 74 -
Gráfico 15: Média de APTT em presença / ausência de SIRS / PCR.....	- 74 -

I. Descrição das atividades realizadas durante o período de estágio curricular

O estágio curricular foi realizado no Hospital Veterinário da Arrábida (HVA), situado em Vila Fresca de Azeitão, nas encostas da serra da Arrábida, no período compreendido entre 1 de Outubro de 2015 a 1 de Abril de 2016, sob a alçada e orientação da Dr.^a Ângela Martins.

Junto ao edifício do hospital encontra-se o Centro de Reabilitação Veterinária da Arrábida (CRAA), estruturas separadas, mas que funcionam interligadas e com constante comunicação dos casos. A equipa é constituída por sete veterinários, incluindo a diretora clínica, quatro enfermeiros e uma auxiliar.

Embora as áreas de maior interesse a nível pessoal, durante o estágio, fossem direcionadas para a medicina de urgências e medicina cirúrgica, o trabalho era dividido em dias no CRAA e dias no HVA, oferecendo assim a oportunidade de acompanhar casos clínicos em diversos tipos de áreas clínicas. Quer no CRAA, quer no HVA, o trabalho era realizado em conjunto com os restantes estagiários e com os membros da equipa, que foram incansáveis ao longo destes meses, sempre atentos e preocupados com qualquer dificuldade ou dúvida que fossem referenciadas.

Este estágio permitiu consolidar de maneira prática e pertinente os ensinamentos adquiridos ao longo do percurso académico, assim como possibilitou a aquisição de novos conhecimentos, práticos e teóricos, de medicina veterinária.

1. Descrição das atividades realizadas

Durante o período em que foi efetuado o estágio curricular foi permitido assistir a diversificadas consultas de várias áreas de medicina interna, assistir a inúmeros procedimentos cirúrgicos, seguir casos desde a anamnese e exame físico, juntamente com a realização de exames complementares, até ao próprio diagnóstico e identificação do tratamento a executar, com respetivo internamento, caso fosse necessário. Além de haver uma participação pró-ativa em todos estes procedimentos, existia ainda a oportunidade de acompanhar animais em regime de internamento e de cuidados intensivos, procedendo ao seu tratamento e manejo.

Era ainda permitido acompanhar variadas situações de urgências. Estes casos, necessitavam que fosse efetuada uma abordagem inicial precisa, rápida e clara com identificação das lesões mais importantes, a fim de estabilizar o animal antes que este entrasse em descompensação.

De seguida serão descritas as atividades realizadas, divididas nas principais áreas onde foi possível intervir clinicamente.

2. Casuística

2.1. Distribuição da população por espécie animal

Esta divisão foi realizada conforme as espécies que se apresentaram à consulta e a distribuição estatística, foi realizada em frequências absolutas (FA) e frequências relativas (FR). A espécie com maior relevância estatística foi a canina com 73% da população animal, enquanto que a espécie felina representou 27% do total (gráfico 1). Relativamente às espécies exóticas, visto que apenas foram consultados 2 doentes (um lagomorfo e uma ave), não apresentam qualquer relevância estatística, sendo apenas apresentadas na tabela 1.

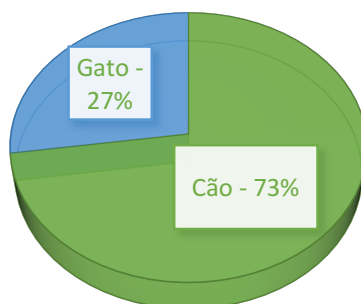


Gráfico 1: Distribuição dos animais apresentados à consulta por espécie

Tabela 1: Distribuição das espécies de animais apresentadas à consulta (FA e FR)

Espécie	FA	FR
Cão	1953	72,6%
Gato	732	27,2%
Exóticos	2	0,07%
Total	2687	100%

2.2. Áreas clínicas

A área clínica com maior valor de frequência absoluta e relativa durante o estágio foi a doença médica, seguindo-se da medicina física e de reabilitação animal, doença cirúrgica, medicina de urgências e por último a medicina de prevenção e profilaxia. Tanto a medicina de urgência como a medicina física e de reabilitação animal são áreas de referência no HVA e CRAA respetivamente. Em gatos, contudo, foram efetuadas mais consultas de medicina preventiva do que medicina física e reabilitação animal.

É importante denotar que estes dados, demonstrados na tabela 2, foram obtidos através do registo do número de casos ocorridos nas diferentes áreas clínicas. Isto porque

era frequente um animal apresentar mais do que uma doença e ser submetido a diferentes métodos de diagnóstico.

Tabela 2: Distribuição das diferentes áreas clínicas (FA e FR)

Área clínica	Cães	Gatos	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Doença médica</i>	913	254	167	43,5%
<i>Medicina física e de reabilitação animal</i>	409	38	447	16,6%
<i>Doença cirúrgica</i>	276	197	473	17,6%
<i>Medicina de urgências</i>	250	182	432	16,1%
<i>Medicina de prevenção e profilaxia</i>	105	61	166	6,2%
<i>Total</i>	1953	732	2685	100%

2.2.1. Medicina de prevenção e profilaxia

Esta área, tal como o nome indica, tem o objetivo de prevenir doenças futuras, tendo principal importância, em animais recém-nascidos. A primo-vacinação vai conceder a estes animais uma imunidade adquirida adequada. Nesta área, os procedimentos com maior relevância, em termos estatísticos, são os de imunoprofilaxia e de desparasitação, seguindo-se as consultas para identificação eletrónica, ou seja, aplicação de microchip, e as primeiras consultas realizadas a cachorros e gatinhos (tabela 3).

Tabela 3: Distribuição de casuística em medicina preventiva e profilaxia (FA e FR)

Medicina de prevenção e profilaxia	Cães	Gatos	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Imunoprofilaxia</i>	51	38	89	54%
<i>Desparasitações</i>	32	12	44	27%
<i>Identificação eletrónica (microchip)</i>	13	7	20	12%
<i>Primeiras consultas</i>	9	4	13	4%
<i>Total</i>	105	61	166	100%

2.2.2. Doença médica

A casuística aqui registada foi dividida por especialidades médicas como exemplifica a tabela 4. As especialidades mais importantes, estatisticamente, foram a ortopedia e músculo-esquelético (14,2%), a neurologia (13%) e a oncologia (12,3%), como se pode verificar na tabela seguinte (4). As duas primeiras apresentam estes valores devido aos vários casos que chegavam ao CRAA, como por exemplo, doentes com displasia do cotovelo, da anca e osteoartrite (referentes à especialidade de ortopedia e músculo-esquelético) ou doentes com hérnias (referentes à especialidade de neurologia). A especialidade de oncologia é comum

em bastantes hospitais, uma vez que o crescimento anômalo de células cancerígenas pode ser despoletado por inúmeros fatores, tornando-se assim uma doença bastante frequente.

A especialidade de dermatologia (8,9%) foi a quarta com maior relevância, porque os animais que se encontravam em regime de internamento no CRAA apresentavam, maioritariamente, um sistema imunodeprimido, o que os predisponha a doenças como piodermites, dermatofitoses e outras doenças dermatológicas. A mobilidade muito reduzida de casos mais grave levava também ao aparecimento de lesões associadas ao decúbito prolongado, como escaras.

A especialidade de doenças infecciosas e parasitárias também apresenta uma frequência considerável, devido ao surto de traqueobronquite infecciosa canina que ocorreu durante o período de estágio, assim como os casos frequentes de leishmaniose, uma vez que a zona onde se encontra o hospital é umas das zonas de maior incidência da doença a nível nacional.

Tabela 4: Distribuição da casuística das diferentes especialidades da área de doença médica (FA e FR)

Doença médica	Cães	Gatos	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Ortopedia e músculo-esquelético</i>	134	32	166	14,2%
<i>Neurologia</i>	121	31	152	13,0%
<i>Oncologia</i>	107	37	144	12,3%
<i>Dermatologia</i>	89	23	112	9,6%
<i>Gastroenterologia e glândulas anexas</i>	78	20	98	8,4%
<i>Doenças infecciosas ou parasitárias</i>	75	12	87	7,5%
<i>Cardiologia</i>	54	15	69	5,9%
<i>Otorrinolaringologia</i>	52	8	60	5,1%
<i>Endocrinologia</i>	41	10	51	4,4%
<i>Oftalmologia</i>	40	10	50	4,3%
<i>Toxicologia</i>	37	11	48	4,1%
<i>Pneumologia</i>	31	22	53	4,5%
<i>Urologia e nefrologia</i>	29	17	46	3,9%
<i>Ginecologia, andrologia e obstetrícia</i>	25	6	31	2,8%
Total	913	254	1167	100%

2.2.3. Doença cirúrgica

Na área de doença cirúrgica, a cirurgia com maior relevância durante período de estágio foi a cirurgia de tecidos moles, que constitui 80,7% do total da amostra. Neste contexto, eram realizadas com maior frequência as orquiectomias e as ovariectomias.

A cirurgia ortopédica apresenta o segundo valor mais alto (14,4 %), uma vez que as cirurgias eram realizadas em ambulatório pelo Dr. Rui Onça e o Dr. António Martinho, sendo

os animais reencaminhados para o CRAA logo no período pós-operatório, de modo a que fosse aplicado de imediato um protocolo de reabilitação adequado, permitindo assim uma recuperação mais rápida do animal (Tabela 5). Foi permitido sempre o acompanhamento dos procedimentos cirúrgicos na sua totalidade:

- a avaliação pré-cirúrgica, com a consequente classificação do risco anestésico;
- planeamento da cirurgia, podendo participar ativamente na mesma, em diversos papéis, como ajudante, circulante ou como apoio ao anestesista;
- acompanhar o animal durante o período de recobro.

Tabela 5: Distribuição da casuística registada relativamente á área de doença cirúrgica (FA e FR)

Doença Cirúrgica	Cão	Gato	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Cirurgia de tecidos moles</i>	216	166	382	80,7%
<i>Cirurgia ortopédica</i>	47	21	68	14,4%
<i>Cirurgia plástica e reconstrutiva</i>	13	10	23	4,9%
Total	276	197	473	100%

2.2.4. Medicina de urgências

O seguinte gráfico (2) demonstra as percentagens do total de urgências ocorridas em período de estágio. Ambas as espécies têm valores consideravelmente semelhantes, contudo, foram acompanhadas mais urgências de cães (FA de 250 casos) do que de gatos (FA de 182 casos). As urgências de carácter toxicológico foram as mais frequentes, seguindo-se as urgências relacionadas com o trato respiratório, os politraumatizados e as urgências neurológicas.

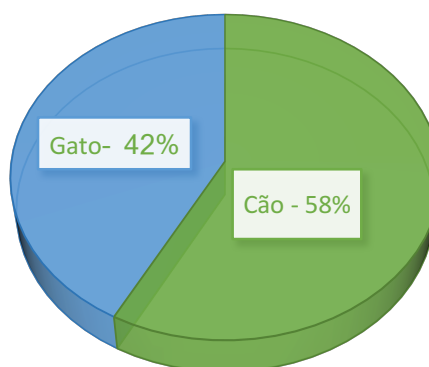


Gráfico 2: Frequência relativa de urgências por espécie

2.2.5 - Medicina física e de reabilitação animal

A área de medicina física e de reabilitação animal foi uma das áreas com maior relevância durante o período de estágio curricular, também devido à inauguração do CRAA,

que permitiu receber casos referenciados de todo o país. Os casos eram seguidos desde a primeira consulta de referência, com o respetivo exame físico de reabilitação funcional, planeamento do protocolo adequado para cada caso, assim como o acompanhamento durante o período de internamento no CRAA ou ambulatório, realizando as modalidades adequadas, treino locomotor e de cinesioterapia.

Os doentes com alterações de locomoção e alterações posturais, devido a doenças neurológicas, foram os mais relevantes, sendo que a doença mais comum é a hérnia discal tipo I comum, presente principalmente em raças condrodistróficas, como o bulldog francês, que se apresentava frequentemente em regime de internamento no CRAA.

Quanto às doenças ortopédicas ou do sistema músculo-esquelético, a displasia coxofemoral foi a mais frequente, seguindo-se da osteoartrite e displasia do cotovelo (tabela 6). Estas doenças acometem animais normalmente numa idade mais avançada, sendo as raças de médio e grande porte mais predispostas para o seu desenvolvimento, como Labradores Retrievers, Pastores Alemães, Rafeiros Alentejanos, entre outros.

Tabela 6: Distribuição da casuística relativa à medicina física e reabilitação animal (FA e FR)

Medicina Física e de Reabilitação Animal	Cão	Gato	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Neurológico</i>	238	28	266	60%
<i>Ortopédico/Músculo-esquelético</i>	165	12	177	40%
Total	409	38	443	100%

2.2.6. Exames complementares

Os exames complementares diagnósticos permitem recolher dados complementares à anamnese e ao exame físico, de modo a auxiliar a obtenção de diagnósticos diferenciais ou obter a confirmação de um diagnóstico final, visto que existem inúmeros e variados tipos de testes de diagnóstico. Os métodos mais utilizados durante o período de estágio foram as análises clínicas, nomeadamente as análises hematológicas e bioquímicas, seguindo-se as análises endócrinas e ionograma. Referente à imagiologia, incluem-se os métodos de radiografia, radiografia com contraste, eletrocardiograma, ecocardiografia e ecografia. Os métodos mais utilizados foram os de radiografia, seguindo-se o de eletrocardiograma e de ecografia, isto em cães. Em gatos, contudo, existe uma ligeira diferença, sendo que o método imagiológico de eletrocardiograma o mais usual, seguindo-se a ecocardiografia e a radiografia (tabela 7).

Quanto aos exames ecocardiográficos, são realizados pelos especialistas da área de cardiologia, Dr.^a Rita Gonçalves e Dr. Pedro Parreira, que se deslocam ao hospital quando solicitados.

Relativamente aos exames de tomografia computadorizada, visto que o HVA não apresenta nenhum aparelho para realização do mesmo, são efetuados pelo Professor Dr. António Ferreira na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Na realização destes exames de imagiologia era permitida a assistência de estagiários, assim como acompanhamento do processo e interpretação das imagens.

Tabela 7: Distribuição da casuística relativamente aos métodos de diagnósticos utilizados (FA e FR)

Exames complementares	Cão	Gato	Total	
	FA	FA	FA	FR
<i>Análises clínicas laboratoriais</i>	580	132	712	69,7%
<i>Imagiologia</i>	120	85	205	20,1%
<i>Tempos de coagulação (PT e APTT)</i>	40	0	40	3,9%
<i>PCR</i>	32	0	32	3,1%
<i>Urianálise</i>	12	5	17	1,7%
<i>PAAF</i>	10	2	12	1,2%
<i>Teste de fluoresceína</i>	2	1	3	0,3%
Total	796	225	1021	100%

II- Monografia

Introdução

A primeira reação do organismo a um estímulo agressivo, que afete a normal hemóstase imunológica, é uma resposta inata, não específica, que precede um conjunto de reações imunológicas específicas e organizadas (Gruys et al., 2006).

A resposta de fase aguda (RFA) faz parte do sistema imune inato e é descrita como uma proeminente reação sistêmica ou local, consequente a uma alteração orgânica provocada por uma infecção, lesão tecidual, crescimento neoplásico, doenças imunológicas, trauma ou cirurgia (Gruys et al., 2006).

Após esta alteração da hemóstase imunológica, regista-se um aumento na produção de proteínas de fase aguda (PFA), em resposta a mediadores inflamatórios, como as citocinas por exemplo (Milne et al., 1991; Kent, 1992).

As PFA são maioritariamente glicoproteínas, sintetizadas pelo fígado, cuja concentração é alterada face a um estímulo infeccioso ou inflamatório. Estas podem ser positivas, caso a sua concentração aumente, como acontece com a proteína C-reativa (PCR), a proteína amiloide sérica A (SAA) e a haptoglobina. Podem também ser classificadas como negativas, como acontece com a albumina e a transferrina, que apresentam um decréscimo na sua concentração (Kent, 1992; Eckersall, 1995; Cerón et al., 2005).

As PFA apresentam uma grande importância clínica em medicina veterinária uma vez que, providenciam um método eficaz de monitorização da saúde do animal. Embora não possam ser utilizadas, isoladamente, como um exame de diagnóstico, podem fornecer informação objetiva sobre a extensão da doença infecciosa ou inflamatória e permitem auxiliar na deteção de infeções subclínicas (Petersen et al., 2003).

Após a resolução da condição patológica, os níveis séricos das PFA voltam rapidamente ao normal, providenciando também um método útil de monitorização da resposta ao tratamento aplicado (Du Clos, 2000).

A PCR, em medicina humana, é uma das PFA com maior importância na prática clínica, sendo utilizada no auxílio do diagnóstico, no prognóstico e como biomarcador em diversas doenças inflamatórias e infecciosas (Cerón et al., 2005).

Em medicina veterinária, a PCR canina, contudo, não tem uma utilização tão vasta, uma vez que apresenta algumas limitações, nomeadamente na prática clínica diária. Por exemplo, a maior parte dos métodos de deteção e análise de amostras séricas disponíveis em clínicas ainda exigem alguma técnica e tempo por parte do médico veterinário e também relativamente à interpretação de resultados, visto não existir uma literatura científica tão diversificada como em medicina humana (Kjelgaard-hansen, 2004; Cerón et al., 2005;).

1. Resposta de Fase Aguda

A resposta de fase aguda (RFA) é um processo dinâmico, constituído por um conjunto de reações sistêmicas e metabólicas desencadeadas, normalmente após uma lesão tecidual, com o objetivo principal de permitir a manutenção da homeostase do organismo (Koj & Aleksander, 1996; Cerón et al., 2005; Rubio et al., 2014). Esta lesão pode ter diversificadas origens, tais como, processos inflamatórios, imunológicos, neoplásicos e traumáticos (Cerón et al., 2005).

A RFA pertence ao sistema imune. Este sistema é altamente especializado, constituído por uma complexa rede de órgãos, células e moléculas que interagem entre si, encontrando-se dividido em sistema imune inato e em sistema imune adaptativo (Cruvinel et al., 2010). Mais especificamente, a RFA pertence ao sistema imune inato e é representada por um conjunto de barreiras físicas, químicas e biológicas, bem como células especializadas e moléculas solúveis, que constituem assim a primeira linha de defesa do organismo contra agressões externas (Cerón et al., 2005; Cruvinel et al., 2010).

As respostas induzíveis do sistema imune inato são despoletadas pelo reconhecimento de organismos patogénicos, através de recetores denominados de recetores de reconhecimento padrão. Estes recetores reconhecem estruturas moleculares que se encontram presentes nos microrganismos invasores e não em células do organismo, aos quais se dá o nome de padrões moleculares associados a patógenos ou PMAPs (*pathogen-associated molecular pattern*) (Medzhitov & Janeway Jr., 2000). Por exemplo, o lipopolissacarídeo (LPS) é um constituinte da membrana exterior de bactérias gram-negativas que, em caso de infeção, estimula a síntese de substâncias químicas e de citocinas que fazem parte da resposta de fase aguda (Fearon & Locksley, 1996).

As propriedades dos PAMPs e o seu reconhecimento pelos recetores do sistema imune inato permite que este detete a presença de uma infeção, mas também que determine o tipo de patogéneo invasor, possibilitando a modulação de uma resposta eficaz do organismo (Medzhitov & Janeway Jr., 2000).

O sistema imune inato reconhece ainda moléculas endógenas, denominadas de padrões moleculares associados ao dano (DAMPs de *damage associated molecular patterns*). Estas substâncias são produzidas ou libertadas por células danificadas, devido a infeções, toxinas químicas, queimaduras, trauma, ou até por células apoptóticas. Os DAMPs também podem surgir de células saudáveis, normalmente referidas como alarminas, cujo efeito aumenta a resposta imune a infeções (Ward, P., 2012).

A resposta de fase aguda representa a reação sistêmica, complexa, que ocorre após uma variedade de insultos ao organismo, sejam eles bacterianos, virais, parasitários,

traumáticos, mecânicos, térmicos, necróticos ou até mesmo devido ao crescimento tumoral maligno (Heinrich et al., 1990; Koj & Aleksander, 1996; Gruys et al. 2005).

Esta reação local, manifestada através de uma inflamação aguda, envolve uma série de respostas, como a agregação plaquetária, a formação de coágulo, a vasodilatação e vasoconstrição e uma ativação de leucócitos, fibroblastos e outras células mononucleares que levam à libertação de citocinas de fase aguda (Heinrich et al., 1990). Através destes mediadores é induzida uma resposta sistémica baseada em alterações metabólicas, neurológicas e endócrinas, que se traduzem em sinais clínicos como piroxia, anorexia, balanço negativo de nitrogénio, catabolismo das células musculares e um aumento libertação de hormonas, nomeadamente da hormona adrenocorticotrófica (ACTH) e glucocorticoides, provocando ainda alterações no metabolismo de lípidos, proteínas e carboidratos (Heinrich et al., 1990; Miert, 1995; Gruys et al., 2005). As interações das citocinas com as diferentes células-alvo leva ainda a uma ativação do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (Gruys et al., 2005). A reação observada está sumariada na imagem seguinte:

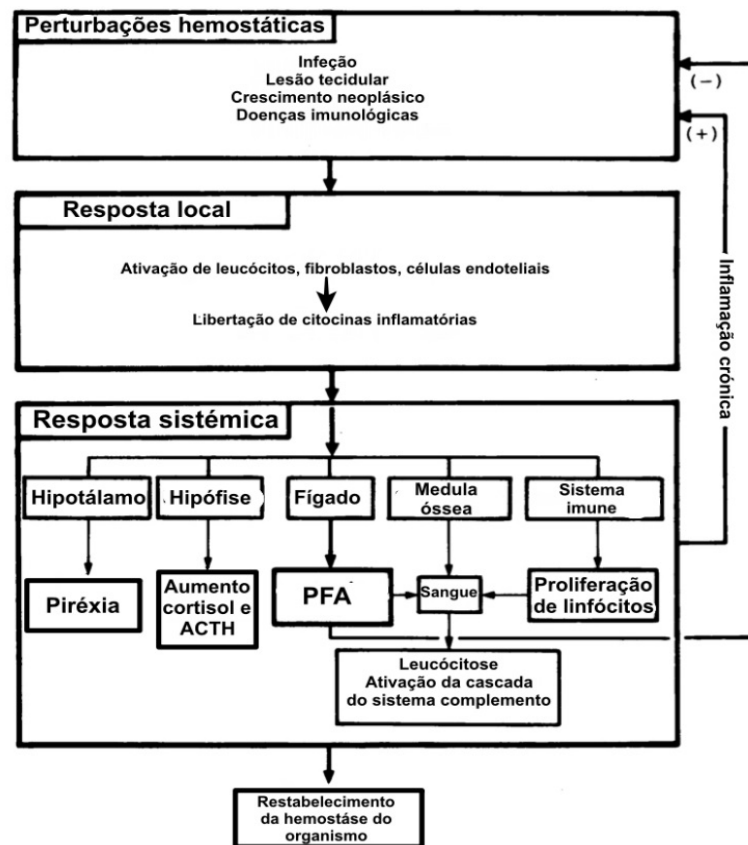


Figura 1: Diferentes reações que ocorrem na resposta de fase aguda no organismo. Adaptado de Heinrich et al., 1990

Em termos de alterações hematológicas e laboratoriais, é espectável a deteção de leucocitose, aumento do ratio de sedimentação de eritrócitos e diminuição sérica da

concentração de elementos como o ferro, zinco e cálcio. Contrariamente, o cobre apresenta um aumento de concentração, uma vez que se liga a uma PFA, a ceruloplasmina (Kushner, 1982). É ainda relatada a ativação das cascatas de coagulação, do complemento e das vias de formação de cinina (*kinin-forming pathways*), assim como um rearranjo da síntese de proteínas plasmáticas, nomeadamente a síntese hepática das proteínas de fase aguda (Heinrich et al., 1990; Miert, 1995; Koj & Aleksander, 1996; Gruys et al. 2005).

A intensidade destes sinais está diretamente relacionada com a lesão, microrganismo ou toxina bacteriana invasora que provoca a reação inflamatória aguda (Miert, 1995).

1.1. Mediadores inflamatórios – as citocinas

Após a lesão tecidual, as citocinas pró-inflamatórias são ativadas juntamente com o sistema vascular e com as células inflamatórias. Estas citocinas, juntamente com óxido nítrico e com os glucocorticoides, tem a capacidade de despoletar e modular a resposta sistêmica da reação de fase aguda e a consequente produção hepática de PFA (Heinrich et al., 1990; Gruys et al., 2005).

Aquando desta resposta sistêmica a uma alteração de caráter inflamatório, são distinguidas duas respostas fisiológicas com maior importância. A primeira, é a desregulação do centro termorregulação do hipotálamo, o que resulta em piroxia; a segunda, está relacionada com as alterações do metabolismo e da regulação de genes do fígado (Baumann & Gauldie, 1994).

Uma resposta inflamatória local, causada por toxinas bacterianas ou através de uma lesão tecidual, vai provocar uma chamada de monócitos ao local, responsáveis por secretar as principais citocinas pró-inflamatórias (interleucina-1, interleucina-6 e fator de necrose tumoral- α). Numa infeção viral, por bactérias gram negativas, o interferon- α (IFN- α), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), e a interleucina-1 (IL-1) são as primeiras citocinas a ser produzidas, sendo que as últimas duas referidas são responsáveis pela migração de neutrófilos até ao local de infeção e pela sua consequente ativação (Miert, 1995; Van Reeth et al., 1998).

As citocinas são mediadores intercelulares que, além de apresentarem um papel importantíssimo na regulação da resposta imune do organismo, tem ainda a capacidade de influenciar a regulação da sobrevivência, crescimento, diferenciação e mesmo da função efetiva de diversos tipos celulares (Heinrich et al., 1998). As citocinas, em geral, apresentam efeitos pleiotróficos (a mesma citocina tem capacidade para atuar em diferentes células alvo), contudo, apresentam ações redundantes e partilham algumas propriedades biológicas entre si (Heinrich et al., 1998).

Na literatura, as citocinas podem ser classificadas consoante a sua estrutura tridimensional, de acordo com o tipo de recetor utilizado, ou agrupadas, consoante as funções que desempenham (Heinrich et al., 1998).

Miert et al. (1995), agruparam estes mediadores em três grupos, mediante a sua função. O primeiro, engloba as citocinas que tem uma função primária de fator de crescimento, seja positivo ou negativo. Neste grupo incluem-se as citocinas interleucina-2, interleucina-3, interleucina-4, interleucina-5, interleucina-10, interleucina-11, interleucina-12 e o fator estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos. O segundo, são as citocinas que têm um comportamento de fatores anti-inflamatórios, como a interleucina-1ra (agonista competitivo da IL-1), recetores da IL-1 solúvel e proteínas ligadas a IL-1 e TNF- α . Por último, as citocinas que apresentam propriedades pró-inflamatórias, como o TNF- α/β , IL-1 α/β , IFN- α/β e a proteína inibidora de macrófagos (MIP) -1 α/β , sendo ainda indutoras de outras citocinas como a IL-6 e a IL-8, leucotrienos, óxido nítrico e do fator ativador de plaquetas (Miert, 1995).

Heins Baumann e Jack Gauldie (1994), diferenciaram as diferentes citocinas em quatro grupos principais. O primeiro, classifica as citocinas do tipo IL-6, onde se incluem a interleucina-6 (IL-6), interleucina-11, fator de inibição da leucemia, o fator neurotrófico ciliar, e a oncostatina M. O segundo, são as citocinas do tipo IL-1, que engloba a IL1- α e β e o TNF- α e β . Estes dois grupos de citocinas atuam como estimuladores da síntese de PFA. Existem mais dois grupos nesta classificação, o grupo dos glucocorticoides e o grupo dos fatores de crescimento, em que ambos se apresentam como moduladores da ação das próprias citocinas (Baumann & Gauldie, 1994).

De todas as citocinas pró-inflamatórias, os maiores mediadores da síntese hepáticas de PFA são a IL-6, o fator de necrose tumoral- α e a IL-1 β . Estas são libertadas maioritariamente por macrófagos, contudo, podem ser sintetizadas por outras células em resposta a diversos estímulos, quer sejam internos, quer externos. A IL-6 pode ser sintetizada extra hepaticamente, como na pituitária ou na mucosa do epitélio nasal, podendo ainda ser sintetizada por outras células nomeadamente as células de Kupffer ou os queratinócitos (Murata et al., 2004).

Na tabela seguinte está descrita a relação entre os tipos de diferentes citocinas e PFA produzidas.

Tabela 8: Influência das citocinas na síntese das PFA (adaptado de Baumann & Gauldie, 1994)

Mediadores inflamatórios	Resposta das PFA
<i>Citocinas do tipo IL-1</i>	Estimulação de PFA tipo-1: <ul style="list-style-type: none"> • PCR • SAA • α1-glicoproteína acida • Complemento C3 • Haptoglobina* • Hemopenxina* • Inibição de PFA tipo-2
<i>Citocinas do tipo IL-6</i>	Estimulação da maioria das PFA Ativador primário de PFA tipo-2: <ul style="list-style-type: none"> • Fibrinogênio α, β e γ • α2- macroglobulina* • Tiostatina* • α1- Antitripsina • α1- Antiquimiotripsina • Haptoglobina • Hemopenxina • Ceruplasmina • Sinergismo com citocinas do tipo IL-1
<i>Glucocorticoides</i>	Pouco estímulo da maioria das PFA Aumento sinérgico dos efeitos das citocinas em grande parte das PFA
<i>Insulina</i>	Redução dos efeitos das citocinas do tipo IL-1 e IL-6 na maioria das PFA
<i>Fator de crescimento de hepatócitos</i> <i>Fator de crescimento de fibroblastos</i>	Redução dos efeitos das citocinas do tipo IL-1 e IL-6 Aumento dos efeitos das citocinas do tipo IL-1 na produção de ácido glicoproteico* e complemento C3

*observado em estudos com ratos

1.2. Proteínas de Fase Aguda

As PFA são um grupo proteico, constituído maioritariamente por glicoproteínas, cuja síntese hepática pode apresentar-se exacerbada como resposta à ação de mediadores inflamatórios. Estes mediadores, são libertados após um estímulo, que pode ser interno ou externo e que apresenta múltiplas origens, nomeadamente infecciosas, inflamatórias, através de trauma cirúrgico ou de stress e que, exercem um efeito sinérgico e modulador da produção das PFA pelo fígado (Murata et al., 2004; Cerón et al., 2005).

Assim, durante a resposta de fase aguda, as concentrações séricas das diferentes PFA diferem bastante do seu nível basal, podendo ser classificadas consoante a resposta que apresentam (Petersen et al., 2003). As PFA, cuja concentração sérica decresce, são denominadas de negativas e incluem a albumina e transferrina. As positivas, que tal como o nome indica, apresentam um aumento sérico durante a RFA, podem ser subdivididas em maiores, moderadas e menores. As primeiras, as maiores, tem um aumento de concentração entre 10 a 100 vezes o valor inicial, como a PCR e a SAA. No grupo das PFA moderadas, com um aumento de concentração entre 2 a 10 vezes a inicial, estão incluídas a haptoglobina, fibrinogénio e α 1-glicoproteína ácida. As menores apresentam apenas um pequeno aumento, sendo que a ceruloplasmina, uma vez que apresenta um incremento gradual entre 60 a 70% do valor basal é classificada como uma PFA menor (Murata et al., 2004; Cerón et al., 2005; Eckersall & Bell, 2010).

As PFAs positivas maiores, apresentam por norma, um aumento de concentração 24 a 48 horas após o estímulo que desencadeou a resposta inflamatória e, visto que apresentam um tempo de semivida curto, o seu declínio de concentração é igualmente rápido. As PFA moderadas e menores já tem um percurso de aumento e declínio de concentração mais lento, sendo mais usuais em casos de processos inflamatórios crónicos (Tothova et al., 2014). Na espécie suína existe ainda uma PFA maior que não está descrita noutras espécies, denominada de pigMAP (Gruys et al., 2005).

Esta classificação não é a mesma para todas os animais, uma vez que a resposta das PFA varia consoante a espécie, isto, à exceção da albumina que, para todas, apresenta uma diminuição na concentração sérica entre 10 a 30% (Petersen et al., 2003).

O comportamento apresentado pelas PFA, embora seja inespecífico, permite a identificação de processos potencialmente nocivos para a homeostase do organismo. Assim as PFA assumem um papel importante no diagnóstico e no prognóstico de diversas doenças, bem como permitir a monitorização da evolução do processo patológico e até de determinados tratamentos (Paltrinieri, 2007).

1.2.1. Aplicação das diferentes proteínas de fase aguda em medicina veterinária

A maior parte das PFA encontra-se presente em níveis séricos basais, apresentando normalmente limites estreitos de valores considerados normais. Estes, não são alterados por fatores intrínsecos ao animal, como por exemplo, o sexo ou a idade. Existe, contudo, um rápido aumento de concentração séricas das PFA, podendo atingir valores bastante elevados, no caso de o animal apresentar uma alteração na homeostasia tecidual (Kent, 1992; Heegaard et al., 2011).

Da mesma forma, existe um decréscimo da concentração das PFA, no caso de a hemóstase do organismo ser restabelecida. Se tal não acontecer, é porque existe uma infecção secundária (Kent, 1992).

Estes pressupostos permitem que as principais PFA adquiram uma grande utilidade clínica diagnóstica em medicina veterinária apresentando, contudo, diferentes comportamentos consoante a espécie (Kent, 1992).

As PFA podem desempenhar diversificados papéis no organismo. A PCR e α_1 -glicoproteína ácida apresentam uma atividade imunomoduladora, antibacteriana e anti-inflamatória. A haptoglobina e a ceruloplasmina exibem propriedades de transporte, apresentando ligações à hemoglobina livre e ao ferro, respetivamente (Paltrinieri, 2007). Existem ainda as proteínas com funções protetoras, como o caso da SAA ou da α -globulina (Paltrinieri, 2007).

As PFA podem ainda induzir doenças, como o caso da SAA. Quando é produzida em casos de inflamação, esta proteína extravasa do sangue para os tecidos, sendo proteolizada por enzimas aí presentes. Se a inflamação for crónica, a SAA fica saturada e as enzimas proteolíticas conseguem apenas proteolizar parcialmente a SAA, acumulando-se esta nos tecidos como amiloide, o que resulta numa amiloidose sistêmica reativa (Paltrinieri, 2007).

Serão de seguida descritas algumas das proteínas com maior importância clínica em medicina veterinária.

A SAA é uma apolipoproteína hidrofóbica de grande densidade (Cerón et al., 2005; Gruys et al., 2005) que apresenta funções no recrutamento de células inflamatórias para o local de inflamação, modulando a resposta inflamatória e inibindo o *burst* respiratório dos leucócitos (Murata et al., 2004; Gruys et al., 2005).

Em bovinos foi descrita uma proteína negativa que apresenta uma reação cruzada com soro anti-SAA. Nestes animais, esta proteína adquire especial importância no diagnóstico clínico de uma inflamação. Níveis séricos aumentados de SAA podem ser encontrados em casos de mastite, no parto ou em animais submetidos a stress (Gruys et al., 2005).

Em cavalos, pode ser útil no diagnóstico de infeções virais ou septicémia e infeção focal em potros neonatos (Murata et al., 2004).

Em cães adquire uma resposta semelhante à da PCR enquanto que em gatos, é das PFA que apresenta um aumento mais rápido de concentração sérica em resposta a uma condição infecciosa ou inflamatória (Eckersall, 1995).

Quanto à haptoglobina, apresenta envolvimento na resposta de defesa do organismo. Esta liga-se à hemoglobina livre no sangue que resulta de processos de hemólise ou, no caso de existir uma lesão tecidual, com invasão bacteriana, a haptoglobina tem a

capacidade de limitar a hemoglobina férrica circulante e impede o crescimento bacteriano (Cerón et al., 2005).

Em cães é uma PFA moderada, utilizada em variadas doenças inflamatórias como método de diagnóstico e de prognóstico (Murata et al., 2004).

Em animais de produção, já se apresenta como uma PFA maior, adquirindo especial importância em ruminantes, sendo amplamente utilizada para detetar e monitorizar processos inflamatórios (Kent, 1992; Murata et al., 2004;), tais como mastite, enterite, peritonite ou abscessos, assim como, para a monitorização de certos tratamentos (Murata et al., 2004).

A α_1 -glicoproteína ácida é uma PFA moderada, sendo utilizada para a monitorização de alguns processos inflamatórios decorrentes em animais de produção. Níveis elevados desta proteína podem ser detetados em doenças como pneumonia e meningite. (Murata et al., 2004)

Em gatos adquire especial importância em termos de diagnóstico, uma vez que pode ser utilizada como um biomarcador de peritonite felina infecciosa (Eckersall, 1995), sendo que, um aumento da concentração desta proteína, também é registado em casos de linfoma, neoplasma, falha renal ou em doenças hepáticas (Paltrinieri, 2007).

Em cães, aumentos da concentração de α_1 -glicoproteína ácida podem ser encontrados em casos de hepatite (Murata et al., 2004).

A ceruloplasmina não tem uma aplicação muito comum na prática clínica veterinária, no entanto, em diversos estudos confirmam que, pode ser utilizada como indicador de infeção em ruminantes, cavalos, cães e galinhas, sendo que na espécie canina pode ter valor como parâmetro de diagnóstico precoce de gravidez (Murata et al, 2004).

Quanto ao fibrinogénio, em cães, também pode ser utilizado no caso de diagnóstico de gravidez, visto que a partir das 3 semanas, os valores séricos desta proteína aumentam após a implantação. No caso dos ruminantes e ovelhas esta PFA indica a presença de inflamação, infeção bacteriana ou trauma cirúrgico e em cavalos unicamente a presença de infeção (Murata et al., 2004).

Quanto às PFA negativas, a albumina é a proteína mais abundante no sangue, constituindo 35-50% da porção proteica do plasma em cães e gatos saudáveis e é responsável por 75% da pressão osmótica do mesmo. Já a transferrina é responsável pelo transporte de ferro no sangue, mas, em condições em que o pH desça dos 5,5 esta desassocia-se do ferro. A concentração sérica da transferrina é normalmente identificada, através da medição da capacidade de ligação do ferro total, ou através de testes imunológicos. A concentração de albumina é realizada através de métodos de espectrofotometria (Cerón et al, 2005).

A PCR será descrita pormenorizadamente no seguinte capítulo.

2. Proteína C-Reativa

2.1. História

A PCR é uma proteína prototípica de fase aguda, que apresenta um rápido aumento de concentração no soro sanguíneo como resposta a um estímulo insultuoso inflamatório ao organismo (Marnell et al., 2005).

Foi a primeira proteína de fase aguda a ser descrita (Cerón et al., 2005), em 1930 por Tillet e Francis, que relataram a sua existência no soro do sangue de doentes infetados por *Streptococcus pneumoniae*. Foi descrita como uma substância que possuía a capacidade de precipitar o polissacárido “C” da parede celular do *pneumococcus* e foi primeiramente denominada de substância C reativa (Marnell et al., 2005).

Abernaty, MacLeod e Avery descobriram, mais tarde, que se tratava de uma proteína e no seu estudo descreveram as suas propriedades (Gotschlich & Stetson, 1960).

Volanakis e Kaplan identificaram posteriormente um ligando específico para a PCR na parede polissacárida do *pneumococcus*, a fosfocolina, sendo que, muitos outros ligandos foram identificados desde então. A PCR, além de interagir com estes inúmeros ligandos também ativa a via clássica do sistema complemento, estimulando a fagocitose (Volanakis & Kaplan, 1970).

A PCR foi descrita, em 1960 por Gotschlich e Stenson, como uma proteína existente no soro de diferentes espécies de mamíferos, sendo primeiramente relatada no soro de macacos e coelhos, através da reação cruzada com anticorpos anti-PCR humanos e da capacidade em reagir com o polissacárido C do pneumococcus (Caspi et al., 1984).

A PCR canina foi identificada apenas em 1966 por Dillman e Coles, sendo isolada em 1970 por Riley e Coleman e caracterizada em 1984 por Caspi. (Eckersall & Conner, 1988).

Os primeiros estudos, conduzidos por Dillman, revelaram a propriedade da PCR em aumentar a sua concentração sérica em resposta a um processo inflamatório. Foi induzido em cães, uma resposta inflamatória, através de uma injeção por via subcutânea de diversas substâncias. Em todos os casos, os níveis de PCR dispararam, incluindo no grupo de controlo, em que os animais apenas teriam sido injetados com uma solução salina estéril ou picados com uma agulha hipodérmica, o que provocou igualmente uma reação inflamatória (Eckersall & Conner, 1988).

Em diversificadas ocorrências, o aumento da PCR foi o primeiro indicador de inflamação, antes mesmo de ser detetada qualquer outra alteração hematológica (Eckersall & Conner, 1988). Contudo, após a recuperação do doente, os valores de PCR voltariam ao seu limite basal (Marnell et al., 2005).

Seguiram-se diversos estudos durante as décadas de 70, 80 e 90 que permitiram identificar o aumento da concentração sérica da PCR em inúmeras condições inflamatórias e

doenças infecciosas tais como a hepatite, nefrite aguda, prostatite purulenta aguda, anemia hemolítica mediada, arterite, leptospirose, parvovirose, entre outras (Coner et al., 1989; Nakamura et al., 2008).

Atualmente, a PCR é utilizada como um parâmetro auxiliar de diagnóstico e monitorização de inúmeras doenças inflamatórias em cães, sendo que o seu nível no soro sanguíneo está geralmente interligado com o grau de desenvolvimento e evolução da atividade do processo patológico (Plickert, et al., 2011).

2.2. Estrutura

2.2.1. Pentraxinas

As pentraxinas são uma família de proteínas plasmáticas oligoméricas compostas por 5 monómeros, apresentando uma topologia de “ β -jellyroll”, que forma estruturas homopentaméricas quaternárias, invariáveis, filogeneticamente conservadas, não covalentes, dependentes de uma ligação de cálcio. Os seus monómeros estão dispostos numa simetria radial anelar de 95Å de diâmetro e 35Å de profundidade (Bottazzi et al., 1997; Romero et al., 1998).

Estas proteínas encontram-se divididas em duas classes, as clássicas curtas, (grupo em que se inserem o PCR e a SAA), uma vez que ambas apresentam um peso molecular de ~25kd e as longas, com pesos moleculares compreendidos entre 40 a 50 kd, onde se inclui por exemplo a pentraxina PTX3 (Rossum et al., 2004).

2.2.2. Estrutura molecular da proteína c-reativa

A PCR é uma proteína plasmática que se encontra presente em diversificadas espécies animais, adquirindo formas homólogas quer em vertebrados como invertebrados. Esta, apesar de apresentar funções diferentes consoante a espécie, exhibe sempre uma característica comum, o seu papel ativo na resposta sistémica à inflamação (Volanakis & Kaplan, 1970). Foi a reatividade que esta apresenta, através da ligação cálcio-dependente com o polissacárido-C na parede celular do *Streptococcus pneumoniae* que, levou à sua descoberta (Thompson et al., 1999).

A purificação da PCR canina mostrou-se uma tarefa delicada, uma vez que, existiam partículas adulterantes no soro sanguíneo, que dificultavam a sua identificação, como as IgM (imunoglobulina M) ou a albumina, ambas exibindo também ligações à fosfocolina. (Yamamoto et al., 1993b)

Yamamoto (1992) conseguiu produzir um soro anti-PCR canino com alta especificidade para a PCR canina, obtido a partir de coelhos, o que levou a isolamento e purificação da molécula.

A PCR é constituída por 5 protómeros, idênticos, monocovalentes, com 206 aminoácidos, simetricamente dispostos em redor de um poro central, como podemos verificar na figura 2.

Tem um peso molecular de 100 κ D, ou seja, cada uma das suas subunidades apresenta uma massa molecular compreendida entre 23 a 25 κ D (Volanakis & Kaplan, 1970; Rossum et al., 2004).

Cada um destes protómeros é identificável através de uma técnica de cristalografia de raio-x. Apresentam uma forma dobrada em duas folhas beta antiparalelas, exibindo uma estrutura achatada “*jellyroll*” (Volanakis & Kaplan, 1970).

Em cada protómero são definidas duas faces, uma plana e uma oposta. A face plana denominada de face de reconhecimento é reconhecida como o local de ligação à fosfocolina e a dois iões de cálcio. Estes encontram-se conectados através de interações com as cadeias principais e laterais carboxílicas dos aminoácidos de diferentes porções da estrutura primária (Volanakis & Kaplan, 1970; Agrawal et al., 2002; Rossum et al., 2004). A face oposta, a face efetora, apresenta dois locais de ligação a moléculas, a fração C1q do complemento e a Fc γ (Volanakis & Kaplan, 1970; Gaboriaud et al., 2003).

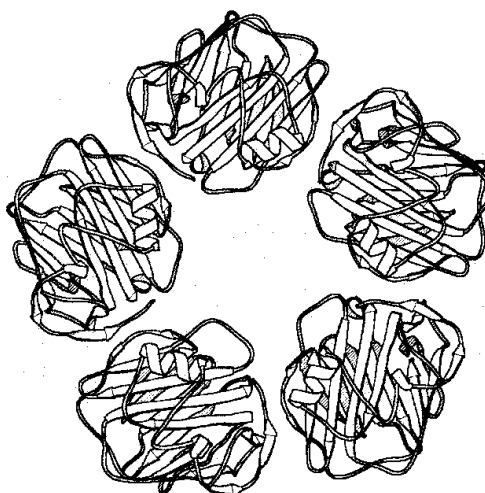


Figura 2: Estrutura pentamétrica da PCR.

A face efetora encontra-se no topo, enquanto que a face plana, de reconhecimento, alberga os locais de ligação de cálcio e à fosfocolina. Adaptado de Volanakis, 2001 citando Shrive et al. em 1996.

Esta face apresenta ainda uma falha, com uma extensão representada entre o centro do protómero até ao centro do poro do pentâmero e que contém vários resíduos e aminoácidos que interagem com recetores da PCR específicos a leucócitos, como podemos visualizar na figura 3 (Agrawal et al., 2001a).

Esta falha, uma vez que se encontra oposta aos locais de cálcio, sugere desempenhar funções nas ligações não-dependentes de cálcio, promovendo a reorientação dos protómeros (Agrawal et al., 2001b).

Os resíduos são dotados de funções de reconhecimento e de regulação da ligação e da ativação da molécula Cq1 (Volanakis & Kaplan 1970; Chi et al., 2002).

Os resíduos Phe66 e Glu81 participam na formação do local de ligação da fosfocolina, sendo que o Phe66 é o principal responsável pelas ligações tanto à fosfocolina como ao polissacárido-C da parede celular do *Streptococcus pneumoniae* (Black, 2005).

A zona de ligação da fosfocolina consiste numa bolsa hidrofóbica formada pelos resíduos Leu64, Phe66 e Thr76, dois iões de cálcio e o Glu81 que está localizado na face contrária da bolsa hidrofóbica. O Phe66 permite o estabelecimento de uma ligação hidrofóbica com os grupos metil da molécula de fosfocolina (a mais importante), enquanto que a cadeia lateral do Glu81 interage com o átomo de nitrogénio positivo quaternário da molécula de colina (Agrawal et al., 2002; Black, 2005).

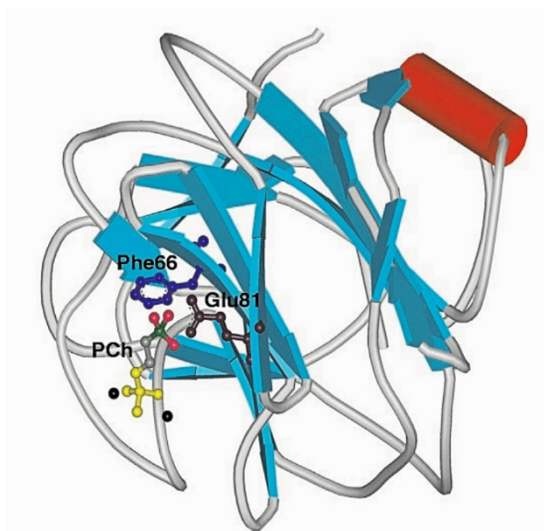


Figura 3: Estrutura do complexo PCR-fosfocolina, sendo que, apenas se encontra representada uma das subunidades da molécula de PCR.

A amarelo encontra-se o grupo fosfato da fosfocolina, a vermelhos os grupos metil da colina e a verde o nitrogénio da colina. Os pontos pretos representam os dois iões de cálcio enquanto que, as cadeias laterais dos aminoácidos Phe66 e Glu88, estão representadas a azul e castanho, respetivamente. (Agrawal et al., 2012)

2.2.3. Ligações da molécula da proteína c-reativa

Em adição, às ligações que a PCR apresenta às paredes celulares bacterianas, como acontece ao ligar-se ao polissacárido C, esta é capaz de se conectar a uma diversificada quantidade de moléculas contendo fosfocolina na sua composição, como lipoproteínas enzimáticas de baixa densidade, membranas fosfolípidicas e até mesmo a líquido surfatante pulmonar (Szalai et al., 1999).

Além da fosfocolina, também a presença de Ca^{2+} permite à PCR conectar-se a uma variedade de substâncias diferentes, tais como, a cromatina, os histonas H_1 , H_2 e $\text{H}_{2\text{B}}$, pequenas ribonucleoproteínas nucleares, a fibronectina e proteínas do envelope nuclear (Shrive et al., 1996; Romero et al., 1998; Szalai et al., 1999; Agrawal et al., 2002;). Contudo, estas ligações podem ser inibidas pela mesma fosfocolina, o que sugere que o local de ligação da fosfocolina na molécula de PCR pode envolver diversas estruturas (Szalai et al., 1999).

Foi também descrito que a PCR tem a capacidade de se ligar a células danificadas, nomeadamente à cromatina em casos de necrose e apoptose (Du Clos, 2000; Agrawal et al., 2002) e a estruturas orgânicas, como o caso de determinadas espécies bacterianas (*Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* e *Neisseriae spp.*), fungos, leveduras e certos parasitas como o *Plasmodium falciparum* e a *Leishmania donovani* (Agrawal et al. 2002).

A PCR tem ainda a capacidade de iniciar um mecanismo fagocítico de eliminação de bactérias, ao ligar-se à proteína de reconhecimento Cq1, ativando assim a via clássica do sistema complemento (Shrive et al., 1996; Mold et al., 1999; Agrawal et al., 2002).

Estas ligações encontram-se esquematizadas na seguinte figura (4):

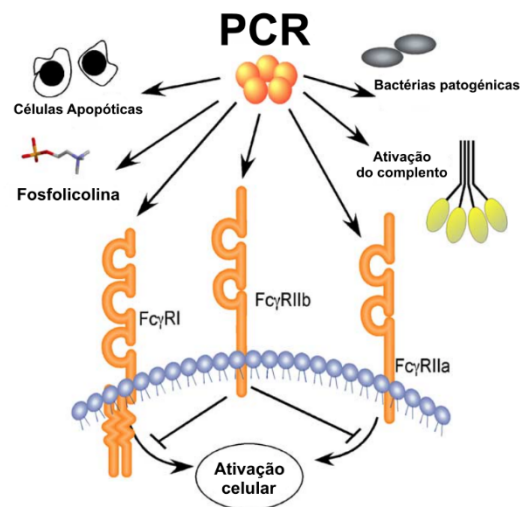


Figura 4: Os diversos ligandos da PCR.

O ligando prototípico é a fosfocolina, que está presente em algumas paredes bacterianas e membranas de células danificadas. A PCR liga-se ainda à molécula de Cq1 para ativar o sistema complemento e também a receptores $\text{Fc}\gamma\text{RI}$ e $\text{Fc}\gamma\text{RII}$ (a,b) na superfície de leucócitos (adaptado de Marnell et al., 2005).

2.3. Síntese e expressão da proteína c-reativa

A maior parte da PCR sintetizada no organismo é realizada a nível dos hepatócitos (Pepys & Marilyn, 1983; Marnell et al., 2005). Já foram descritas outros tipos de sínteses da PCR humana extra-hepática, como por exemplo em linfócitos (Kuta & Baum, 1986),

monócitos, neurónios e placas ateroscleróticas. Contudo estas sínteses não influenciam a concentração dos níveis plasmáticos da PCR (Black et al., 2005).

A PCR é uma proteína que se encontra naturalmente presente no soro sanguíneo, em circunstâncias fisiológicas normais, apenas em concentrações basais. É, após um estímulo agudo e em resposta à libertação das citocinas pró-inflamatórias, que a sua síntese é iniciada, na área periportal do fígado, espalhando-se às restantes células do lóbulo hepático (Pepys et al., 1983; Romero et al., 1998).

A sua secreção é iniciada 4 a 6 horas após o estímulo primário, aumentando para o dobro logo após 8h e atingindo o seu pico máximo às 36-50 horas, sendo que apresenta um tempo de semi-vida de 19 horas (Mitaka, 2005).

Os hepatócitos produzem as PFA em simultâneo visto que, não apresentam nenhuma especialização individual para a sua síntese. O aumento desta síntese está relacionado com um aumento do número de espécies apropriadas de ARN mensageiro, o que foi demonstrado em estudo na década de 80, com a proteína SAA e a proteína α 1-glicoproteína ácida, em ratos e com a α 1-antitripsina em babuínos (Pepys & Marilyn, 1983).

Quanto à indução da PCR pelos hepatócitos, é realizada, a nível transcricional pela IL-6 (Volanakis & Kaplan, 1970). Esta pode atuar isoladamente ou em conjunto com a interleucina-1 (IL-6). Esta última, ao atuar sozinha, não tem qualquer efeito na expressão da PCR (Agrawal et al., 2003; Cerón et al., 2005).

A regulação de cada gene das várias proteínas de fase aguda é devida às interações específicas de indução entre as interleucinas e os fatores de transcrição dos seus promotores. Ambas as interleucinas tem a capacidade de controlo da expressão de vários genes de proteínas de fase aguda, através da ativação de fatores de transcrição STAT3, proteínas Rel (ou NF- κ B) e membros da família C/EBP(β/σ) sendo os últimos os mais importantes para a indução da PCR (Volanakis & Kaplan, 1970). Estes fatores ligam-se em diferentes locais do promotor da PCR (Agrawal et al., 2003).

Estudos realizados por Agrawal et al. (2003), com a linha celular Hep3B, permitiu determinar que as proteínas Rel, nomeadamente a c-Rel, liga-se diretamente a proteína C/EBP β , formando um complexo no promotor da PCR. Assim a c-Rel, ao favorecer esta ligação, tem a capacidade de regular a expressão da PCR, sem que seja necessária uma ligação à base kB, na molécula de ADN (Agrawal et al., 2003). São as interações entre as diferentes proteínas que permitem à ligação C/EBP-ADN, adquirir uma maior estabilidade, resultando numa otimização da expressão da molécula de PCR (Agrawal et al., 2001b).

2.4. Função

A PCR é uma proteína de fase aguda presente no soro sanguíneo. Em condições normais a sua concentração basal é bastante diminuída, contudo, aquando de um estímulo inflamatório, durante a resposta de fase aguda, a sua concentração pode apresentar uma marcada subida, devido ao aumento da sua síntese hepática, através da estimulação de citocinas inflamatórias (Mold et al., 1999).

Como já referido anteriormente, a PCR tem capacidade de se ligar e interagir com diversas macromoléculas e vários tipos celulares. É a reatividade destas ligações específicas a diversos tipos de ligandos que permite o reconhecimento de um número de microrganismos e estruturas celulares muito abrangente (Pepys & Marilyn, 1983).

A PCR tem a capacidade de se ligar com grande afinidade à cromatina do núcleo de células danificadas, degradando os seus componentes nucleares (Eckersall & Conner, 1988).

Tem também a capacidade de se ligar a organismos celulares patogénicos, reduzindo a sua toxicidade, uma vez que inicia processos de defesa do organismo contra infeções, como a ativação do complemento e a fagocitose (Pepys & Marilyn, 1983).

Assim, a PCR pertence ao sistema inato imune do organismo, visto que funciona como uma molécula de reconhecimento padrão para a ativação da resposta imune adaptativa (Du Clos, 2000). Através da ativação da via clássica do sistema complemento e da ligação a recetores Fc γ R tem a capacidade de regular a fagocitose (Du Clos, 2003).

2.4.1. Ligação Proteína c-reativa a Cq1 e ativação do sistema complemento

A PCR tem a capacidade de iniciar funções do sistema imunitário contra a inflamação, tais como a precipitação, aglutinação, opsonização e ativação da via clássica do sistema complemento (Siegel et al., 1974).

O sistema complemento faz parte do sistema inato imune e integra um dos principais mecanismos de imunidade mediada por anticorpos, sendo constituído por mais de 30 proteínas plasmáticas. Destacam-se três funções mais importantes: defender o organismo de infeções bacterianas piogénicas através da opsonização, permitir uma interação entre a imunidade inata e a adaptativa e eliminar complexos imunes ou até mesmo células apoptóticas (Walport, 2001; Guo & Ward, 2005).

O sistema complemento é ativado através de diversos mecanismos por uma de três vias: a clássica, a alternativa e a da lectina, sendo a primeira a utilizada pela PCR (Iturry-Yamamoto & Portinho, 2001).

Na via clássica, a primeira das três a ser descoberta e estudada, as proteínas envolvidas são designadas de C1 a C9. Esta inicia-se aquando da ligação do complexo C1 (constituído por uma molécula de C1q, duas de C1r e duas de C1s) a um anticorpo conectado

a um antígeno na superfície celular bacteriana, terminando com a lise da célula (Walport, 2001).

As proteínas da segunda via, a via alternativa, são designadas de fatores e esta é iniciada através da ligação covalente entre C3b a grupos hidroxílicos nos carboidratos à superfície da célula. Como resultado, é feita a ativação da clivagem enzimática de C3 em C3a e C3b (Walport, 2001).

Por último, a via das lectinas, é ativada pela ligação do complexo da lectina ligadora de manose (que se apresenta associada a proteases séricas) a lipopolissacáridos bacterianos, resultando na clivagem de C4 e C2 e na formação de uma convertase C3 (Mold et al. 1996).

A ativação do sistema complemento é uma função da PCR, que permite eliminar microrganismos e mediar a proteção contra bactérias, como o *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*, sendo que é mais eficiente a ativação da via clássica (C1-C4 e uma menor ativação das proteínas de complemento C5-C9) (Mold et al., 1996; Black, 2005; Marnell et al., 2005). Esta ativação por parte da PCR difere da ativação por anticorpos, uma vez que se observa uma ativação seletiva de componentes precoces sem a formação do complexo de ataque à membrana (MAC) (Marnell et al., 2005).

A PCR participa assim no sistema de defesa do hospedeiro, enquanto limita os efeitos inflamatórios potencialmente nocivos dos componentes tardios do complemento (Black, 2005).

2.4.2. Recetores Fc γ R da proteína c-reativa e a estimulação da fagocitose

A PCR apresenta a capacidade de se conectar a recetores existentes na superfície celular dos monócitos, leucócitos e de células da linha mielóide, denominados de Fc γ RI e Fc γ RIIIa (Bharadwaj et al., 1999; Volanakis, 2001). A ligação da PCR aos leucócitos efetua-se com baixa afinidade através dos recetores Fc γ RI e com alta afinidade aos Fc γ RIIIa (Stein et al., 2000).

Os recetores Fc γ R constituem um elemento bastante importante no que toca a imunidade humoral e celular, uma vez que ligam as moléculas IgG através das regiões Fc que possuem. A estimulação das células através desta ligação permite iniciar uma variedade de funções efetoras, nomeadamente o mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpo, a fagocitose e a libertação de diversos mediadores de inflamação (Stein et al., 2000).

Os recetores Fc γ R são reconhecidos por duas classes, os recetores estimuladores, caracterizados por uma sequência de associação citoplasmática denominada, motivo de ativação do imunoreceptor baseado em tirosina (imunoreceptor *tyrosine-based activation motif*-

ITAM) e os recetores inibidores, que apresentam uma sequência de motivo de inibição do imunorreceptor baseado em tirosina (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif- ITIM*) (Volanakis & Kaplan, 1970).

A fagocitose e secreção de citocinas são exemplos de respostas desencadeadas pelos Fc γ R estimuladores. Os recetores inibidores, ou seja, que contém ITIM, quando se encontram agregados aos recetores estimuladores, tem a capacidade de regular negativamente a atividade mediada por estes últimos. É este balanço entre o input estimulador e o inibidor que determina a resposta celular (Volanakis & Kaplan, 1970; Salmon & Pricop, 2001).

Black (2005) afirma que, tanto em humanos como em ratos, a PCR tem capacidade de se ligar a estes dois tipos de recetores. Todavia, esta não é uma afirmação consistente em toda a comunidade científica (Hundt et al., 2001).

A PCR liga-se a determinada célula ou partícula, interagindo depois com células fagocitárias e consequentemente resultando na fagocitose dessa mesma célula ou partícula. Esta capacidade de opsonização foi demonstrada em macrófagos e neutrófilos, através da ligação aos recetores Fc γ RI, podendo ainda ser mediada indiretamente por fragmentos opsonicos do complemento, que ao ligarem-se à PCR iniciam o sistema complemento (Du Clos, 2000; Volanakis, 2001).

2.4.3. Proteção contra infeções

As capacidades de opsonização da PCR estendem-se à defesa do organismo contra infeções, como demonstrado por diversos estudos realizados com ratos (Du Clos et al., 1994; Szalai et al., 1996; Black, 2005).

A PCR, neste animal, não tem o mesmo comportamento que por exemplo, em cães, não agindo como uma proteína de fase aguda e raramente excedendo os valores séricos de 2 μ g/ml (Szalai et al., 1996; Volanakis, 2001).

Esta propriedade permitiu que fossem realizados vários estudos científicos, administrando PCR humano contra infeções por *pneumococcus* em ratos. Os ratos transgênicos, com o PCR-humano, capazes de desenvolver uma resposta de fase aguda, apresentavam redução na intensidade da infeção e consequente diminuição de mortalidade. (Szalai et al., 1996; Black, 2005; Thomas-Rudolph et al., 2007).

Outros modelos de infeção foram estudados, como por exemplo, utilizando *Haemophilus influenzae* (Weiser et al., 1998).

Weiser et al. (1998), relataram no seu estudo, que na ausência de anticorpos, a PCR, através de uma ligação dependente de cálcio, liga-se à variante ChoP+, adquirindo a capacidade do anticorpo em falta e ativando assim a cascada de complemento. Apesar de

não atuar da mesma forma que no caso de infeções por *pneumococcus*, a PCR também contribui para a imunidade inata contra determinadas estirpes de *H.influenzae* (Weiser et al., 1998).

2.5. Métodos de deteção

Tal como já foi referido, a PCR é uma proteína de fase aguda, que aumenta rapidamente a sua concentração em resposta a diversos processos inflamatórios, infecciosos e de lesão tecidular (Parra et al., 2006). Em cães, tal como se verifica na espécie humana, esta propriedade pode ser bastante útil para monitorizar a evolução de doenças infecciosas ou para determinar a eficácia de um tratamento aplicado (Ibraimi et al., 2009; Plickert et al., 2011).

Existem diversos tipos de testes laboratoriais que permitem a deteção das concentrações das diferentes proteínas de fase aguda e podem ser utilizados como métodos mais rápidos e sensíveis de diagnóstico de inflamação (Parra et al., 2006).

A medição sérica da PCR é normalmente realizada com base em técnicas imunológicas, utilizando anticorpos específicos de PCR canino. Destas destacam-se as técnicas de electroimunoensaio, imunodifusão, imunoturbidimetria, teste de aglutinação de látex capilar reversa passiva e o teste de imunoabsorção enzimático (ELISA) (Hutchinson et al., 2000; Cerón et al., 2005; Parra et al., 2005a).

Mais recentemente, Parra e os seus colaboradores (2005b) realizaram diversos estudos que permitiram identificar a PCR canina no sangue total, saliva e em efusões, utilizando um novo método de teste imunológico fluorescente de tempo-resolvido (*time resolved fluorometry*).

Em medicina humana, com a utilização da PCR como um biomarcador de doenças relacionadas com o estilo de vida (obesidade, diabetes *mellitus*, certas doenças cardiovasculares adquiridas) (Hillström et al., 2015), novos testes têm vindo a surgir em substituição aos métodos clássicos (Hutchinson et al., 2000), mais rápidos e fáceis de executar, possibilitando a identificação de concentrações muito baixas de PCR (Hillström et al., 2015).

Testes como o método de ELISA ou os testes imunológicos fluorescentes de tempo-resolvido já apresentam limites de deteção baixos, contudo, surgiu a necessidade de obter um teste automático, que permitisse a utilização regular da deteção da PCR na prática clínica veterinária. Assim, foram desenvolvidos os testes de alta-sensibilidade de PCR canina (*high-sensitivity CRP assays*) (Hillström et al., 2015).

2.5.1. Testes de alta sensibilidade

Ibraimi et al. (2009) e os seus colaboradores desenvolveram um teste automático baseado na deteção de permeabilidade magnética. Este método utiliza anticorpos anti PCR-

canino conjugados com nanopartículas de óxido de ferro revestidas com dextrano. Estas funcionam como marcadores superparamagnéticos para deteção da molécula de PCR. Adicionalmente são utilizadas micropartículas anti-PCR canino policlonais conjugadas com sílica (Ibraimi et al., 2009).

Nesta técnica, a amostra é colocada num detetor de permeabilidade magnética que efetua a medição do antígeno de PCR, que se encontra presente na amostra, através do aumento da permeabilidade magnética, registado pelo sedimento das nanopartículas de sílica com o complexo imunológico formado entre o antígeno de PCR e as nanopartículas superparamagnéticas (Ibraimi et al., 2009). A figura (5) seguinte demonstra o processo descrito.

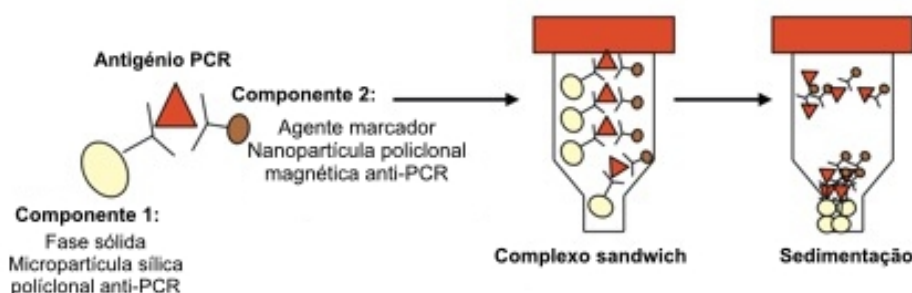


Figura 5: Ilustração do imunoenensaio baseado na técnica de permeabilidade magnética. O antígeno do PCR presente numa amostra de sangue total forma um complexo sandwich com as nanopartículas magnéticas (o agente marcador) e as micropartículas de sílica anti-PCR policlonal (fase sólida) presentes na amostra. Por fim, o sinal de reação do complexo sandwich sedimentado é medido, sendo determinando o valor de PCR presente na amostra de sangue total canino (adaptado de Ibraimi et al. 2009).

Mais recentemente, Hillström e colaboradores (2015), validaram um teste de alta sensibilidade, desenvolvido com base num teste imunoturbidimétrico específico para a espécie canina e compararam os resultados com os obtidos através da técnica de ELISA. Este estudo revelou que, existia pouca concordância entre os resultados dos dois testes imunológicos, embora o limite de deteção mínimo da concentração de PCR com o teste automático de alta sensibilidade fosse inferior ao registado com o teste ELISA.

O teste automático apresentava grandes variações entre as amostras, sendo que a causa para tal não foi determinada. Contudo, o facto de ser um teste automático apresenta-se como uma grande vantagem, visto eliminar a hipótese de ocorrência de erros de manipulação. Além disso, foi determinado que, o teste de alta sensibilidade automático é capaz de detetar com maior precisão um aumento da concentração de PCR em animais em cirurgia (medições efetuadas no decorrer de um processo cirúrgico de ovariectomia), o que determina que este teste é preferível na monitorização de alterações de PCR nas primeiras horas de pós-operatório (Hillström et al., 2015).

2.6. Variações fisiológicas dos valores da proteína c-reativa

2.6.1. Valores normais

A medição da PCR pode ser bastante útil para detetar uma inflamação, tanto em humanos como em cães. A introdução de técnicas de alta sensibilidade, em medicina veterinária, possibilitou a utilização da PCR como marcador inflamatório, em casos de diagnóstico clínico patológico de cães doentes e para monitorizar a saúde de cães submetidos a testes experimentais. Contudo, para tal ser bem sucedido, é necessária uma compreensão correta sobre as variações fisiológicas das PFA (Otabe et al., 1998).

Yamamoto e colaboradores (1994a), efetuaram um estudo em beagles saudáveis, onde identificaram, pela técnica de ELISA e RPLA (aglutinação de látex reversa passiva de *reversed passive latex agglutination*) o valor mínimo de PCR sérico em cães adultos correspondendo aos valores de 8.4 µg/ml e 8,5 µg/ml respetivamente.

Mais tarde, Otabe et al. (1998), determinaram no seu estudo, sobre as concentrações fisiológicas da PCR em cães normais, que a média de concentração da proteína se registava entre 0,8 a 16.4µg/ml (Otabe et al., 1998).

Na literatura, são diversos os estudos realizados (Yamamoto et al., 1994a; Otabe et al., 1998; Kuribayashi et al., 2003; Cerón et al., 2005), com a vista a detetar os valores normais fisiológicos da PCR sérica canina, contudo, diferentes métodos de deteção foram utilizados, o que torna difícil chegar a um valor de consenso. Assim, torna-se necessário saber quais os valores de referência do teste utilizado, para não serem induzidos erros na análise dos dados (Archer, 2008; Paul et al., 2011).

De seguida serão descritos diversos fatores fisiológicos, sendo que nem todos apresentam qualquer influência na variabilidade na concentração sérica da PCR.

2.6.2. Idade

A idade não constituiu um fator de variabilidade na concentração sérica da PCR em cães saudáveis, assim como não afeta as restantes proteínas de fase aguda (Eckersall & Bell, 2010; Nemzek et al., 2012).

Todavia, foi descrito que, animais em idade adulta, em comparação com cachorros, tendem a exibir uma resposta mais exacerbada a uma reação inflamatória (Yamamoto et al., 1993a; Nemzek et al., 2012).

Esta afirmação foi demonstrada por Hayashi e colaboradores (2001) no seu estudo. Compararam as concentrações de PCR e AAG (alfa 1- glicoproteína ácida) no soro de cães saudáveis com 1, 3 e 18 meses de idade, após uma estimulação imunitária obtida com óleo de turpentina, inoculação com *Staphylococcus aureus* ou através de uma vacina viral. Também foram avaliados animais que foram submetidos a uma ovariectomia ou

gastrotomia percutânea. O valor de PCR no seu pico de concentração foi sempre superior nos cães com 18 meses do que nos cachorros com 1 mês (Hayashi et al., 2001).

2.6.3. Género e gestação

Kuribayashi e co-autores (2003) efetuaram um estudo envolvendo 74 cães de raça beagle saudáveis, de variadas idades e determinaram que, a média da concentração de PCR em machos era de $7,9 \pm 3,4$ $\mu\text{g/ml}$, enquanto que nas fêmeas se registava o valor de $8,3 \pm 4,0$ $\mu\text{g/mL}$. Estes resultados, consistentes com outros estudos realizados, permitem afirmar que não existe uma relação entre o sexo e diferentes concentrações séricas da PCR. (Kuribayashi et al., 2003; Cerón et al., 2005) No mesmo estudo foram ainda avaliadas cadelas gestantes, cujo valor de concentração de PCR, medida entre os 30 e 45 dias após ovulação era entre $70,2-90,4$ $\mu\text{g/mL}$ (Kuribayashi et al., 2003).

Este aumento pode ter origem num mecanismo subjacente que ainda não está completamente determinado. Especula-se que, alterações embrionárias que ocorrem durante a implantação e o desenvolvimento da placenta, nomeadamente a invasão do endométrio pela placenta (Fransson, 2012), ou devido à influência de hormonas endócrinas, possam ser as causas para o aumento da concentração da PCR sérica em cadelas gestantes (Kuribayashi et al., 2003).

2.6.4. Variações diárias/ ritmo circadiano

Tal como o descrito em humanos, o ritmo circadiano parece não exercer qualquer influência na concentração de PCR em cães adultos (Cerón et al., 2005).

No estudo de Otabe e colaboradores (2000), foram efetuadas várias medições da concentração sérica da PCR e foram estudados os resultados de dois períodos de tempo, um ao longo de 24h, várias vezes ao dia, e outro ao longo de 4 semanas. Não foram encontradas variações significativas dos níveis de proteína em nenhum dos períodos temporais analisados.

2.6.5. Variações ambientais

Yamamoto e os seus colaboradores (1994a) estudaram a concentração sérica da PCR em 150 cães saudáveis da raça beagle, de diferentes sexos e idades, onde 66 destes animais, seriam provenientes de casas privadas, enquanto 84 estavam em canis de criadores. Foram usadas duas técnicas de deteção diferentes, ELISA e RPLA. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos, seja em termos de idade, seja em termos de sexo.

Porém, foi registado um pequeno aumento da média de valores de concentração da PCR dos beagles mantidos em casas privadas (através do método de ELISA registou-se $8,4 \pm 4,9$ $\mu\text{g/ml}$ e pelo método RPLA, $8,5 \pm 6,3$ $\mu\text{g/ml}$), em comparação com os valores dos cães mantidos em canis, sendo que, estes se encontravam em condições muito limpas (através do

teste ELISA foi registado o valor de $6,2 \pm 3,9$ $\mu\text{g/ml}$ e através do RPLA $8,4 \pm 4,0$ $\mu\text{g/ml}$). Pensa-se que esta diferença poderá ter sido devido ao contacto dos animais com algum estimulante do sistema imunitário, que não estava presente em ambientes controlados como no canil (Yamamoto et al., 1994a).

2.6.6. Influência de fármacos

Como já referido anteriormente, a PCR pode ser utilizada para detetar a atividade inflamatória durante a progressão de uma doença e para monitorizar a eficiência da terapêutica aplicada ao doente, uma vez que os seus valores voltam ao nível basal logo após a resolução da inflamação (Kjelgaard-Hansen et al., 2003b).

Sílvia Martínez-Subiela e co-autores estudaram a influência de glucocorticoides, uma das classes medicamentosa com maior utilização em medicina veterinária, na concentração sérica de diferentes PFA (Martínez-Subiela et al., 2004).

Este estudo incidiu na administração de vários tratamentos com glucocorticoides e na observação da variação da concentração das PFA. Concluiu-se que, a haptoglobina apresentava aumentos significativos em todos os grupos, enquanto que, a ceruloplasmina, PCR e SAA não apresentavam qualquer diferença digna de registo, o que torna estas PFA biomarcadores fidedignos para monitorização da resposta de uma terapêutica com glucocorticoides (Martínez-Subiela et al., 2004).

Outros estudos realizados, nomeadamente com inibidores de prostaglandina, também não afetaram a concentração sérica da PCR, neste caso, realizado em doentes diagnosticados com sepsis por *Escherichia coli* (Cerón et al., 2005).

Em casos estudados de doentes com sinovite, como manejo do controlo de dor, foram utilizados diversos fármacos anti-inflamatórios, como o carprofeno, meloxicam ou butorfonol, que também não influenciaram a concentração da PCR (Ridker et al., 1999).

2.7. Proteína c-reativa em diferentes espécies

A PCR, desde a sua descoberta em 1930 por Tillet e Francis, já foi identificada em diversificadas espécies de mamíferos como humanos, cavalos, porcos, cães, gatos, ratos, coelhos e ruminantes (Murata et al., 2004) mas também em espécies aquáticas tais como peixes teleósteos (Sarikaputi et al., 1991).

Contudo o comportamento da PCR como uma PFA e a intensidade da resposta a um estímulo inflamatório é, no entanto, diferente consoante a espécie (Sarikaputi et al., 1991).

Comparando cães e gatos, por exemplo, a concentração desta proteína de fase aguda apenas parece ser alterada em resposta a uma inflamação, em cães. Nestes animais, a PCR é uma das proteínas de fase aguda com maior importância clínica, sendo utilizada

como um método de diagnóstico de inflamação fiável, uma vez que o seu aumento está normalmente associado com a extensão e atividade da doença (Garvican et al., 2012).

Em gatos, a PCR foi isolada pela primeira vez apenas em 1992, por Watanabe et al. (1992), que demonstrou que a sua concentração sérica normal é superior à encontrada em cães e humanos. Os dozes gatos estudados apresentaram níveis de PCR entre 38 a 168 $\mu\text{g/ml}$ enquanto que os gatos bebés apresentavam concentrações séricas entre 20 a 359 $\mu\text{g/ml}$, sendo que 80% se encontravam abaixo dos 40 $\mu\text{g/ml}$.

Nos casos dos ruminantes, embora alguns estudos tenham registado um aumento na concentração da PCR durante infeções, esta não é considerada uma proteína de fase aguda, mas está presente no soro normal do animal (Eckersall & Conner, 1988; Petersen et al., 2003).

Por outro lado, em porcos, a PCR pode ser considerada um dos melhores marcadores de doenças inflamatórias e pode auxiliar na monitorização do estado de saúde do animal, sendo um fiável indicador da presença de stress (Murata et al., 2004; Gutiérrez et al., 2009).

Em cavalos, a PCR também se apresenta como uma PFA moderada, uma vez que após uma estimulação inflamatória, os seus níveis séricos aumentam várias vezes em relação aos valores basais (Murata et al., 2004). Este aumento da concentração sérica já foi registado em casos de pneumonia, enterite, artrite e no pós-cirúrgico, nomeadamente após o procedimento de orquiectomia (Petersen et al., 2003).

2.8. Diferentes doenças que afetam a concentração da proteína c-reativa

A meia-vida da PCR em cães, é menor que em humanos, o que faz com que a medição da sua concentração seja eficaz numa grande variedade de doenças e condições clínicas (Cerón et al., 2005; Garvican et al., 2012).

O aumento desta concentração pode ser encontrado em cães que padecem de doenças inflamatórias tais como sepsis, babesiose, piómetra, anemia hemolítica imunomediada, tumores malignos (relatado em casos de linfoma e hemangiossarcoma), arterite, glomerulonefrite (Nakamura et al., 2008) e várias doenças do trato digestivo, tais como enterite parvovírica e bacteriana, obstrução intestinal, IBD (*inflammatory bowel disease*), periodontite (Paul et al., 2011) assim como em casos de pancreatite e de hepatite (Gebhardt et al., 2009; Sheahan et al., 2010, Garvican et al., 2012).

Segundo um estudo conduzido por Nakamura e parceiros, a maior elevação na concentração de PCR foi registada em doenças neoplásticas e imunomediadas (Nakamura et al., 2008).

A PCR pode ainda estar aumentada em alguns casos onde a inflamação é secundária a um processo não inflamatório, como falha renal ou hepática ou até mesmo

diabetes *mellitus*, sendo que estudos mais recentes demonstram que a PCR pode ter a sua concentração aumentada também em cães obesos (Weisberg et al., 2003; German et al., 2009).

Uma das aplicações clínicas mais importantes da medição da PCR é na área da neurologia, visto que permite monitorizar casos de meningite responsiva a esteroides (Schatzberg & Nghiem, 2012).

2.8.1. Doenças inflamatórias e infecciosas

A maior parte das doenças infecciosas estudadas, quer tenham sido induzidas ou quer tenham sido observadas no decorrer de processo natural patológico nos animais, produzem uma rápida resposta de fase aguda, com um aumento acentuado das concentrações séricas de PFA, nomeadamente da PCR que aparenta ser a proteína que apresenta uma resposta mais pronunciada a uma infeção (Cerón et al., 2005).

Estudos realizados, a partir de uma infeção induzida por *Leishmania infantum* amastigotas em cães, confirmaram os mesmos resultados obtidos anteriormente com infeções naturais, determinando que a PCR é a proteína de fase aguda que apresenta uma elevação sérica mais rápida aquando do estímulo infeccioso. Após a recuperação clínica do animal a PCR apresenta uma diminuição da concentração sérica, o que reforça a hipótese que as PFA apresentam um decréscimo de concentração após o tratamento ser efetivo (Martinez-Subiela et al., 2011).

Contudo, a determinação combinada de várias PFA, pode fornecer um método ainda mais preciso para analisar diferentes doenças, comparativamente à utilização de uma PFA isolada. Os índices de PFA calculam a relação entre uma proteína de fase aguda maior e menor simultaneamente. No caso da leishmaniose, para deteção da doença e monitorização do tratamento, o índice mais sensível é o que envolve a PCR, ceruloplasmina e albumina (Martínez-Subiela & Céron, 2005).

Nenhuma correlação foi identificada entre as concentrações de PFA e os títulos de anticorpos em diferentes infeções (Cerón et al., 2005). A resposta da PCR é mais rápida e atinge valores máximos antes da elevação sérica da IgG (imunoglobulina G), o que seria espetável, uma vez que as PFA são mediadores da imunidade inata e os anticorpos IgG pertencem ao sistema imune adquirido (Martinez-Subiela et al., 2011)

Na tabela (9) seguinte estão resumidos os aumentos de concentração sérica da PCR registadas nas diferentes doenças infecciosas estudadas por diversos autores:

Tabela 9: Aumento da concentração sérica de PCR em diferentes doenças (adaptada de Cerón et al., 2005)

Doença infecciosa	Aumento sérico da PCR	Referencia
<i>Babesiose</i>	30 x	(Lobetti et al., 2000; Ulutas et al., 2005)
<i>Broncopneumonia (Bordetella bronchiseptica)</i>	95 x	(Yamamoto et al., 1994b)
<i>Erlchiose</i>	3,3-6,5 x	(Rikihisa et al., 1994)
<i>Leptospirose</i>	Infeção induzida: 16-80 x Infeção natural: 30x	(Caspi et al., 1984)
<i>Leishmaniose</i>	Infeção natural: Sintomático: 30 x Assintomático: 15 x Infeção experimental: 6x (concentração máxima: 37,56 mg/L)	(Martinez-Subiela et al., 2011; Martínez-Subiela, et al., 2002)
<i>Tripanossomíase</i>	20x (a maior medição do nível sérico da PCR foi de 200mg/L em alguns animais)	(Ndung'u et al., 1991)
<i>Parvovirose</i>	20x	(Yamamoto et al., 1993a)
<i>Dirofilariose</i>	4x Microfilaremia (média:25.03mg/L) e Amicrofilaremia (média: 21.15mg/L)	(Méndez et al., 2014)

2.8.2. Doenças do trato respiratório

O estudo de Yamamoto et al. (1994b) envolveu cães inoculados experimentalmente com *Bordetella bronchiseptica*. Durante o estudo foi produzido um modelo experimental de broncopneumonia e foi aplicado um protocolo de tratamento com prednisolona, num dos grupos do estudo. Os resultados revelaram, mais uma vez, a elevação dos níveis séricos de PCR e que após uma terapêutica eficaz, os níveis voltavam a baixar, sendo ainda determinado que a concentração da PCR se mantinha inalterada, quando efetuada a administração de prednisolona.

Outros métodos de detecção de doenças inflamatórias, como a contagem de leucócitos (WBC) podem ser afetados após a administração desta substância farmacêutica, o que determina que a utilização da medição da concentração da PCR pode ser um dado muito mais fiável para monitorizar a eficácia do tratamento (Yamamoto et al. 1994b).

Segundo o estudo de Viitanen et al. (2014), o aumento sérico da PCR é encontrado em cães com doenças das vias respiratórias inferiores, sendo que a maior concentração da proteína é encontrada em animais que padecem de broncopneumonia, o que vai de encontro com os resultados obtidos por Yamamoto e colaboradores (2014), assim como com Nakamura et al. (2008), que determinaram igualmente a elevação dos valores de PCR em casos de broncopneumonia e pneumonia.

Cães com doença nasal também apresentam um aumento nos níveis de PCR, sendo mais marcado em casos de neoplasia (14,8mg/L) e aspergilose (13,4 mg/L). Em casos de rinite crónica esta elevação é mais discreta (4,8mg/L) (Sheahan et al., 2010).

2.8.3. Doenças do trato gastrointestinal

Otabe et al., em 2000, induziram experimentalmente em cães, uma lesão aguda da mucosa gástrica através da administração de uma dose de ácido acetilsalicílico, indometacina ou cloreto de sódio. Os resultados revelaram mais uma vez a presença do aumento dos níveis de PCR no acometimento da mucosa gástrica.

Em animais que apresentavam doença inflamatória intestinal ou pancreatite, também foi determinado que as alterações nos níveis séricos da PCR permitem monitorizar a atividade de ambas as doenças, assim como avaliar o efeito da terapia, relacionando uma diminuição dos valores com a melhoria dos sinais clínicos, mais uma vez sugerindo que a PCR apresenta um grande valor laboratorial para a medição dos efeitos da terapia (Jergens et al., 2003; Nakamura et al., 2008).

Níveis aumentados de PCR foram ainda descritos em animais com outro tipo de doenças entéricas, como enterite bacteriana ou obstrução intestinal. Esta elevação deve-se à inflamação ou trauma do processo obstrutivo subjacente à doença (Eckersall, 1995; Cerón et al., 2005).

2.8.4. Doenças neurológicas e imunomediadas

Como já foi descrito anteriormente, a medição sérica das PFA tem adquirido uma crescente utilização, como um método de diagnóstico na prática clínica veterinária (Bathen-Noethen et al., 2008).

A meningite-arterite responsiva a esteroides (MARE) é uma das formas mais comuns de meningite diagnosticadas em cães, cuja confirmação de diagnóstico e monitorização de tratamento é comumente utilizado o método de recolha e análise de líquido cérebrospinal.

Assim, o estudo de A. Bathen-Noethen e colaboradores (2008) surgiu para responder à necessidade de encontrar um método menos invasivo de monitorização da eficácia do tratamento.

Após análise da concentração sérica de PCR e no fluido cérebroespinal de cães afetados, os resultados permitiram apoiar a hipótese que a MARE é uma doença sistêmica ou que faz parte da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), sendo que, a medição da concentração sérica de PCR, pode ser uma ferramenta útil no diagnóstico da doença e para monitorizar possíveis recidivas (Bathen-Noethen et al.,2008).

A medição sérica da PCR, contudo, apresenta uma limitação, uma vez que, este aumento não pode ser diferenciado de outras doenças inflamatórias, como por exemplo, a sepsis (Cerón et al., 2005; Bathen-Noethen et al., 2008).

O aumento de concentração de PCR registado na análise ao fluido cérebroespinal pode ter origem em hemorragias na subaracnoide, uma vez que, cães com MARE apresentam um risco aumentado de desenvolverem estas hemorragias. Em cães,que apresentam sepsis secundária a vasculite do sistema nervoso central, a permeabilidade aumentada e função desorganizada da barreira hematoencefálica pode explicar o aumento de concentração. Este aumento pode ainda ser explicado através do aumento de concentração de leucócitos nas meninges, uma vez que estes têm capacidade de sintetizar a PCR (Bathen-Noethen et al.,2008).

Para além da sua utilidade na MARE, a medição da concentração de PCR pode ter importância na monitorização do tratamento com esteroides, de doenças imunomediadas como a poliartrite canina imunomediada e a anemia hemolítica imunomediada, pois, tal como acontece no caso de tratamentos com prednisolona, os esteroides podem afetar as concentrações de marcadores inflamatórios como a contagem de glóbulos brancos (WBC) e o número absoluto de granulócitos, tornando-os inadequados para monitorização do tratamento (Kjelgaard-Hansen et al., 2006; Mitchell et al. , 2009).

2.8.5. Doenças cardíacas

Diversos estudos relacionaram o aumento da PCR com várias doenças cardíacas, como a doença mixomatosa da válvula mitral (DMVM) ou a cardiomiopatia dilatada, duas formas de doença cardíaca adquirida em cães, que resultam numa falha cardíaca congestiva (Cunningham et al., 2012). Contudo, nem todas as opiniões são consensuais nesta área da medicina.

Rush et al. (2006), detetaram um aumento da concentração sérica da PCR em casos de cães com doença valvular degenerativa crónica, isto apesar de estudos histológicos proporem que este processo degenerativo das válvulas teria uma origem não inflamatória.

Estes achados podem sugerir a presença de um processo inflamatório sistêmico secundário. (Rush et al., 2006).

Porém, no estudo conduzido por Reimann e colaboradores (2016), os cães com doença cardíaca congestiva (DCC) não possuíam nenhuma diferença significativa do grupo de cães sem a doença. Este estudo determinou, ainda, que o aumento de concentração não está relacionado com a gravidade da doença do animal.

Também o estudo de Cunningham et al., em 2012, relata o aumento da concentração sérica de PCR em cães com DCC devido a DMVM, relacionando este aumento com a gravidade da doença.

Opiniões discrepantes surgem por Ljungvall et al. que, não relatou esta associação, possivelmente, devido ao tamanho e variação da amostra utilizada ou do método de detecção dos níveis de PCR (Cunningham et al., 2012; Reimann et al., 2016).

Apesar de todas estas divergências, em humanos a PCR, assim como a IL-6, foi associada com o risco de desenvolvimento de alguns processos patológicos como a aterosclerose (Yudkin et al., 1999) e com a apoptose das células dos músculos lisos da coronária vascular, diminuindo a liberação de prostaglandinas pelas células endoteliais (Rush et al., 2006).

Em medicina humana, a utilização da PCR (de alta sensibilidade) tem sido cada vez mais estudada, com o intuito de concluir sobre a possível relação existente entre doenças crônicas, como por exemplo, doenças cardíacas (Doumatey et al., 2013).

Ridker et al. (1999), em estudos de medicina humana, determinaram que a PCR de alta sensibilidade é um marcador útil na detecção do risco cardiovascular. Relataram também que, as concentrações desta proteína podem ser moduladas, neste caso, reduzidas, através da utilização de uma terapia a longo prazo com estatinas, nomeadamente a pravastatina, sendo que, a eficácia deste fármaco é maior em indivíduos com níveis aumentados de PCR (Ridker et al., 1999).

2.8.6. Doenças neoplásicas

A resposta de fase aguda é despoletada, não especificamente, por diversas formas de lesão tecidual ou morte celular. O cancro apresenta uma alta taxa de morte celular, devido ao turnover celular fortemente intensificado pela isquémia que alguns tumores com rápido crescimento podem provocar. Os tecidos adjacentes podem ainda ser afetados pela expansão volumétrica dos tumores, que leva, mais uma vez, à morte celular (Merlo et al., 2007).

Em humanos a elevação sérica de PCR tem sido estudada em várias condições neoplásicas (Tecles et al., 2005), de forma a ser usada como fator de prognóstico e marcador para remissão e reaparecimentos de tumores. Embora o mesmo não possa ser afirmado em

cães, segundo o estudo de Merlo et al. (2007), que determinou que a PCR não pode ser utilizada como um marcador de remissão do linfoma (Merlo et al., 2007).

Estudos envolvendo doentes com neoplasia linfoide, permitiram estabelecer uma relação entre os níveis séricos de IL-6 e PCR. Esta relação foi ainda investigada noutras neoplasias, como o mieloma múltiplo ou o carcinoma renal, onde foi determinado que a forte correlação entre os níveis séricos de PCR e de IL-6 representam um importante fator de prognóstico da doença, o que torna a medição dos níveis de PCR uma ferramenta clínica diagnóstica bastante útil, uma vez que a sua medição é mais fácil que, neste caso, a IL-6 (Legouffe et al., 1998).

Em cães, foi determinado que neoplasias linfáticas, encontram-se associadas a uma elevação dos níveis de PCR. O aumento dos níveis de várias PFA em indivíduos com linfoma, leucemia e mieloma parece refletir que, por um lado, a IL-6 desempenha um papel importante na maturação de células B e na patogénese de neoplasias linfáticas e por outro, que é um importante mediador da resposta da fase aguda (Legouffe et al., 1998; Petersen et al., 2003; Mischke et al., 2007).

O estudo conduzido por Tecles e colaboradores (2005) utilizou 55 cães divididos em 4 grupos de doenças: doenças inflamatórias agudas, neoplasias hematológicas, neoplasias não hematológicas e anemia autoimune hemolítica. Foram estudadas diferentes proteínas de fase aguda em todos os grupos e a PCR foi registada como a que se encontrava significativamente aumentada em todos os processos inflamatórios agudos apresentados. Com os resultados obtidos foi permitido afirmar que a magnitude da resposta de fase aguda não depende do local inicial da inflamação uma vez que, nos diferentes processos observados, foram descritas respostas semelhantes por parte das PFA e a mesma doença podia produzir níveis diferentes na concentração sérica da PCR (Tecles et al., 2005).

Relativamente aos tumores mamários, uma das neoplasias mais frequentes em cadelas, também é relatado um aumento da concentração de PCR. Contudo, este apenas é pronunciado em casos de cadelas que apresentem metástases ou com um tumor com tamanho superior a 5cm e ulcerado (Tecles et al., 2009).

Estes resultados sugerem que os tumores mamários apresentam uma baixa estimulação da resposta de fase aguda, quando não apresentam processos patológicos secundários tais como, metáteses, inflamação ou ulceração. O maior aumento da concentração de PCR é registado em fêmeas com tumores ulcerados, o que propõe que a magnitude da resposta de fase aguda pode ser diretamente influenciada pela atividade da massa tumoral e do tecido inflamado. Pode ainda refletir a presença de uma resposta inflamatória não específica à necrose tumoral ou a danos no tecido local (Tecles et al., 2009).

No estudo de Nakamura et al. (2008), que envolveu diversas doenças neoplásicas, foi detetada uma elevação sérica da PCR em casos de hemangiossarcoma, adenocarcinoma, carcinoma colangiocelular, leucemia linfoblástica aguda, histiocitose maligna e linfoma (Nakamura et al., 2008).

2.8.7. Obesidade

Sabe-se que a obesidade tem a capacidade afetar a função metabólica e endócrina do tecido adiposo (Weisberg et al., 2003), estando associada ao desenvolvimento de diabetes tipo II (German et al., 2009). Este órgão secreta hormonas, fatores proteicos, citocinas e outras proteínas relacionadas com a inflamação, o que resulta numa inflamação sistémica de baixo grau, crónica. Consequentemente vai existir um aumento da concentração das PFA, como a PCR, haptoglobina e citocinas pró-inflamatórias, como a FNT- α e a IL-6 (Trayhurn, 2005; German et al., 2009).

Um estudo de German et al. que envolveu cães obesos, submetidos a uma perda de peso, demonstrou que existe uma relação entre esta perda de peso e a diminuição dos níveis de marcadores inflamatórios, nomeadamente a PCR (German et al., 2009).

2.9. Aplicação clínica da proteína c-reativa

Após um estímulo inflamatório do sistema imunitário, é posteriormente desenvolvida, uma rápida resposta de fase aguda, muitas das vezes mesmo antes de o animal apresentar qualquer sinal clínico. Neste sentido, o estudo das PFA permite a obtenção de um teste fiável para a resposta sistémica a um estímulo inflamatório, uma vez que representam um marcador potencialmente mais sensível que outras alterações inflamatórias usadas comumente na prática clínica, como por exemplo a contagem de leucócitos (Cerón et al., 2005; Dabrowski et al., 2013).

É possível encontrar uma relação, entre a PCR e outros marcadores inflamatórios tais como temperatura, contagem de leucócitos, de leucócitos polimorfonucleares e de neutrófilos (Safar & Fagon, 2002; Lars et al., 2003; Cerón et al., 2005). As PFA apresentam uma maior estabilidade que os componentes celulares sanguíneos, o que, para realizar uma análise de deteção, permite que seja utilizado plasma sanguíneo congelado ou amostra de plasma, o que é uma propriedade com bastante utilidade na prática clínica (Cerón et al., 2005).

2.9.1. Proteína c-reativa como diferenciador de piómetra e hiperplasia endometrial cística

A piómetra é uma doença reprodutiva bastante comum em cadelas, apresentando uma etiologia hormonal e infecciosa. A hiperplasia endometrial cística, por outro lado, é uma desordem hormonal que afeta a atividade das glândulas mucosas da membrana uterina, o

que favorece a entrada a agentes bacterianos, normalmente por parte da bactéria *E.coli*. Esta infeção é normalmente acompanhada por uma endotoxémia, sepsis ou SIRS (Fransson et al., 2007; Dabrowski et al., 2013).

O estudo de Dabrowski e colaboradores (2013) comparou amostras de sangue arterial e periférico uterino de PCR, SAA e haptoglobina em várias cadelas com piómetra de cérvix aberto e fechado. Concluíram que, a medição dos níveis de PFA no sangue periférico, pode ser um método indicativo bastante útil do estado de inflamação do útero (Dabrowski et al., 2013).

Embora apresentem consideráveis diferenças entre si, estas duas doenças podem ser bastante complicadas de diferenciar em ambiente clínico, uma vez que a endotoxémia é responsável por alterações patológicas secundárias, o que provoca consequentes sinais clínicos da piómetra (Park et al., 2004).

No estudo conduzido por Fransson et al. foram avaliados diversos parâmetros de diagnóstico, de maneira a determinar quais os que permitiam diferenciar clinicamente piómetra de HEC (Fransson et al., 2007).

Foi determinado que os níveis de PCR e fosfatase alcalina, assim como a determinação da percentagem de neutrófilos (leucograma), foram os parâmetros com maior utilidade para distinção das duas doenças (Fransson et al., 2007).

A percentagem de neutrófilos em banda na contagem de leucócitos, em combinação com uma alta concentração de PCR, apresenta-se como o indicador mais sensível para prever se o fluido no útero é uma piómetra (Park et al., 2004). Contudo, a associação de fosfatase alcalina e percentagem de bandas, apresentam uma sensibilidade maior, com redução da especificidade (Fransson et al., 2007).

Outro diagnóstico diferencial de piómetra a ter em conta é a gravidez, que também apresenta aumento na concentração sérica de PFA (Fransson et al., 2007). Este aumento de concentração presume-se que seja despoletado pela lesão que ocorre no endométrio após a implantação do embrião (Eckersall & Bell, 2010).

2.9.2. Proteína c-reativa em cirurgia

A cirurgia também foi registada como uma causa de um aumento marcado da PCR (Yamamoto et al., 1993a; Cerón et al., 2005, Nemzek, 2012).

Normalmente a intensidade do trauma cirúrgico está relacionada com a magnitude do aumento da concentração de PCR (Yamamoto et al., 1993a; Cerón et al., 2005;)

A contagem de leucócitos, parâmetro que aumenta após um procedimento cirúrgico, no estudo conduzido por Yamamoto et al. (1993a), mostrou-se igualmente elevado aquando da remoção dos pontos da sutura, momento em que o doente apresenta o desaparecimento dos sinais clínicos. Por outro lado, a medição sérica da PCR revelou uma descida acentuada

da concentração, sugerindo que esta pode ser utilizada como um método mais fiável que a contagem de leucócitos, na monitorização da recuperação pós-cirúrgica do animal (Yamamoto et al., 1993a; Céron et al., 2005).

3. Síndrome de resposta inflamatória sistémica e sepsis

A inflamação pode ser definida como uma resposta localizada, protetora do organismo, sendo provocada por uma lesão ou destruição tecidual e tem como objetivo, destruir, diluir ou extrair os agentes infecciosos ou o tecido lesado (Silverstein D., 2015; Kirby R., 2017).

Como já referido anteriormente, aquando desta lesão, são libertados mediadores químicos em resposta à indução antigénica que conseqüentemente vai iniciar a resposta inata imune do organismo responsável pela inflamação. Quando a inflamação está restrita ao local da lesão, os diversos mediadores são responsáveis por sinalizar o problema, destruindo possíveis agentes patogénicos e promovendo a regeneração tecidual (Kirby, 2017).

Contudo, em doentes mais debilitados, a resposta pode descontrolar-se e tornar-se sistémica, seja esta referente a um estímulo infeccioso ou não infeccioso, denominando-se de SIRS (de *systemic inflammatory response syndrome*) (Silverstein, 2015; Kirby, 2017). Se este estímulo apresentar uma origem infecciosa, designa-se de sepsis (Cunningham et al., 2012; Neumann, 2015; Silverstein, 2015; Singer et al., 2016). No decurso desta doença pode ainda ocorrer uma síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) ou uma múltipla falha orgânica (MFO) (Kirby, 2017).

O diagnóstico entre sepsis e SIRS pode ser algo dúbio, uma vez que, estas doenças podem apresentar sinais clínicos muito semelhantes e os exames diagnósticos disponíveis usualmente (como por exemplo, a recolha de amostras bacteriológicas ou a leitura da contagem de leucócitos) podem ser bastante inespecíficos, o que dificulta a sua interpretação (Castelli et al., 2004).

3.1. Síndrome de resposta inflamatória sistémica

A SIRS é definida como uma manifestação clínica de uma resposta sistémica a diversos estímulos patológicos, onde é possível definir duas ou mais alterações do mecanismo de controlo da homeostasia corporal (Bone et al., 1992, Robertson & Coopersmith, 2006; Martí-Carvajal et al., 2011;).

Diversas adaptações destes critérios foram extrapoladas de medicina humana e adaptadas à medicina veterinária (Hauptman et al., 1997; Gebhardt et al., 2009; Ripanti et al. 2012).

A tabela (10) seguinte mostra os diferentes critérios utilizados para obtenção de um diagnóstico positivo de SIRS (Silverstein, 2015), sendo que existem algumas variações consoante o autor.

Tabela 10: Classificação dos parâmetros clínicos para diagnóstico de SIRS segundo diferentes autores.

Parâmetros Clínicos	<i>Segundo (Hauptman et al., 1997)</i>	<i>Segundo Gebhardt et al., 2009) (que se baseou nos estudos de Hauptman et al. e Laforcade et al.)</i>	<i>Segundo (Ripanti et al., 2012)</i>	<i>Segundo (Silverstein e Acvecc, 2015)</i>
<u>Frequência cardíaca</u>	>120 bpm	>140 bpm	>120 bpm	>120 bpm
<u>Frequência respiratória</u>	>20 rpm	>20 rpm	>20 rpm	>20 rpm
<u>Temperatura</u>	<38°C e >39°C	<37,8°C e >39,4°C	< 38,1°C e > 39,4°C	<38,1°C e >39,2°C
<u>Leucograma</u>	>16000/ μ L ou <6000/ μ L	>16000/ μ L ou <6000/ μ L	>16000/ μ L ou <6000/ μ L	>16000/ μ L ou <6000/ μ L
<u>Banda de neutrófilos</u>	<3%	<3%	< 3%	<3%

Um doente com SIRS pode apresentar o desenvolvimento de uma disfunção de um sistema de órgãos, o que resulta em insuficiência aguda pulmonar, choque, falha renal e no SDMO (Bone et al., 1992).

Posteriormente à resposta inflamatória registada na SIRS, é registada uma resposta pró-inflamatória subsequente, registando-se uma síndrome de resposta compensatória anti-inflamatória (SRCA). Esta resposta anti-inflamatória apresenta um aumento na libertação de citocinas anti-inflamatórias e de citocinas agonistas, mantendo-se na circulação sanguínea mais tempo que os mediadores pró-inflamatórios (Kirby, 2017).

A disfunção funcional de macrófagos é um contribuidor para a SRCA visto que diminui a capacidade de apresentação de antígenos e liberta citocinas pro-inflamatórias (Kirby, 2017).

A libertação de citocinas pró e anti-inflamatórias ocorre ao mesmo tempo, ou seja, a indução de SRCA e SIRS ocorre simultaneamente, sendo que esta pato-fisiologia ainda não é completamente conhecida. Contudo, as alterações hemodinâmicas nestes casos são conhecidas, sendo relatado nos doentes a presença de três tipos de choque, simultaneamente; hipovolémico, distributivo e cardiogénico (Kirby, 2017).

A possibilidade da medição sérica da PCR ser utilizada com fator de prognóstico em SIRS, foi estudada, em cães, por Gebhardt e colaboradores (2009). Utilizaram dois grupos de cães, um com SIRS não séptica e o outro constituído por cães com sepsis. Embora não tenham sido encontradas diferenças na concentração sérica de PCR de ambos os grupos, houve

uma correlação entre os níveis de PCR e a previsão de sobrevivência de animais em estado crítico (Gebhardt et al., 2009).

3.2. Sepsis

Em 1992, os termos, sepsis, SIRS, choque séptico, foram determinados pela *American College of Chest Physicians* (ACCP) juntamente com a *Society of Critical Care Medicine* (SCCM), com o intuito de facilitar os médicos na sua abordagem clínica ao doente, de modo a potenciar a rapidez com que é realizada a identificação da doença, procedendo desta forma, a uma intervenção terapêutica rápida e eficaz (Bone et al., 1992).

Assim foi definido que sepsis, é a resposta sistémica do organismo a determinada infeção. Se, juntamente à sepsis, o doente apresentar uma associação de disfunção orgânica, hipotensão e hipoperfusão, denomina-se sepsis grave, enquanto choque séptico é definido como uma sepsis induzida por hipotensão apesar de uma fluidoterapia de ressuscitação adequada, encontrando-se associada a anormalidades na perfusão sanguínea (Bone et al., 1992).

Contudo, estas definições, na opinião de muitos clínicos eram pouco específicas e apresentavam uma clareza reduzida. Em 2001 foi realizada uma nova conferência, entre diversos organismos de saúde, com o objetivo de esclarecer estas definições (Levy et al., 2003).

Nesta conferência foi desenvolvido um sistema de classificação de sepsis denominado de “PIRO”, que se baseia na predisposição de condições, da natureza e extensão do insulto infeccioso, da magnitude da resposta e o grau de disfunção orgânica (Levy et al., 2003).

Foi concluído que, apesar de as classificações determinadas em 1992 não serem concretas o suficiente, todos os termos apresentados continuavam apropriados quer para o uso clínico, quer para o uso científico, tendo apenas sido alargada a lista de sinais clínicos para diagnóstico de sepsis (Otto, 2007; Singer et al., 2016).

Sem terem sido realizadas nenhuma alteração significativa durante muito tempo, estes termos permaneceram inalterados na comunidade científica. Com vista a reavaliar estas definições, uma vez que, surgiram novos conhecimentos sobre as alterações patobiológicas induzidas pela sepsis, em 2014, a *European Society of Intensive Care Medicine* e a *Society of Critical Care Medicine* reuniram uma equipa de especialistas em diferentes áreas clínicas (Singer et al., 2016).

Foi determinado que a sepsis é definida como uma disfunção grave causada pela desregulação da resposta do organismo a uma infeção. Choque séptico foi definido como uma consequência decorrente do processo de sepsis, que expressa alterações metabólicas, circulatória e celulares no organismo, o que num doente se traduz num maior risco de

mortalidade. Foi ainda definido que o termo de sepsis grave seria redundante e dispensável (Singer et al., 2016).

A disfunção orgânica que ocorre em casos de sepsis, pode ser detetada através de uma escala denominada de SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), que se encontra representada na tabela 11 e onde são avaliados diversos parâmetros. Uma avaliação igual ou superior a dois pontos indica um risco acrescido de mortalidade (Castelli et al., 2004; Ripanti et al., 2012).

Tabela 11: Escala *Sequential Organ Failure Assessment* adaptada à espécie canina (Ripanti et al., 2012)

Sistema	Pontuação				
	0	1	2	3	4
Respiratório PaO ₂ /FIO ₂ , mm Hg (kPa)	<400	≤400	≤300	≤200	≤100
Circulatório Plaquetas, x10 ³ /μL	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Bilirrubina, mg/dL (μmol/L)	<0,6	0,6 - 1,4	1,5 - 5,0	5,1 - 11,0	>11,1
Cardiovascular Hipotensão	Sem hipotensão	PAM (pressão arterial média) < 60mmHg	*Dopamina ≤ 5 ou dobutamina	*Dopamina >5 ou epinefrina ≤ 0,1 ou norepinefrina ≤ 0,1	*Dopamina >15 ou epinefrina ≤ 0,1 ou norepinefrina ≤ 0,1
Sistema nervoso central Escala de Glasgow modificada	15	13 - 14	10 - 12	6 - 9	<6
Renal Creatinina (mg/dL)	<1,4	1,4 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9	>5,0

*Agentes adrenérgicos administrados pelo menos 1 hora antes (doses em μg/kg/min)

Diversas ligações celulares podem ocorrer durante a sepsis. Os recetores de reconhecimento de patógenos (RRP) como os recetores *Toll-like* (TRLs) e os recetores com domínio de ligação à nucleotídeos e oligomerização (*nucleotide binding oligomerization domain-like receptors* - NLRs) são os principais responsáveis pela defesa do organismo contra invasões patogénicas (De Jong et al., 2010).

Esta resposta pró-inflamatória que ocorre pode desenvolver-se secundariamente à libertação de componentes bacterianos, tais como os lipossacarídeos das bactérias gram negativas, que interagem com os TLRs e desencadeiam uma resposta inflamatória (Kirby R., 2017). O sistema TRL pode também ser ativado através de uma infeção estéril, como acontece no caso de um politrauma grave, não penetrante, numa lesão isquémica e de

reperfusão ou até no caso de um choque hemorrágico, onde os produtos que são libertados, DAMPs que se ligam aos TRLs (Ward, 2012).

Nos casos de infecção através de bactérias os agonistas dos TRL são designados por PAMPs que, por sua vez, interagem com os recetores de padrão de reconhecimento, onde também se incluem os TRLs (Ward, 2012).

Os vários membros da família NLR, como os NLRP1 e NLRP2 tem a capacidade de formar complexos multimoleculares denominados inflamassomas, emitindo assim a ativação das caspases inflamatórias. Subsequentemente existe um processamento das citocinas pró-inflamatórias IL1p e IL-18, que contribuem para os efeitos nefastos da resposta pró-inflamatória que ocorre em casos de sepsis (De Jong et al., 2010).

A sepsis, assim como a SRIS, tanto em medicina veterinária como na humana, são doenças que apresentam uma considerável taxa de mortalidade, o que torna necessário definir uma abordagem de deteção precoce de modo a iniciar um tratamento efetivo e impedir desfechos fatais nos doentes (Hauptman et al., 1997; Gebhardt et al., 2009).

Inúmeros estudos tem sido realizados em medicina humana, relacionando a aplicabilidade da PCR como um possível indicador de diagnóstico de sepsis (Povoa et al., 1998; Castelli et al., 2004; Sierra et al., 2004; Hofer et al., 2012), assim como, para avaliar a evolução do doente em resposta à terapêutica utilizada e até mesmo de possíveis recaídas, isto porque, um decréscimo no nível sérico de PCR, está associado a um prognóstico mais favorável (Povoa et al., 1998; Hofer et al., 2012).

A literatura é consensual que, devem ser efetuadas diversas leituras dos níveis séricos da PCR num doente ao longo do dia para monitorizar a terapêutica utilizada (Povoa et al., 1998). Para fins de diagnóstico, estas medições devem ser efetuadas 24-48h após o início dos sinais clínicos, uma vez que durante uma resposta inflamatória sistêmica, a indução mais lenta da PCR, faz com que a sensibilidade do teste diminua (Hofer et al., 2012).

3.3. A relação entre inflamação e coagulação

A inflamação relaciona-se com a coagulação através de três tipos de mecanismos. O principal é a indução da expressão do fator de tecidual (FT) na superfície de determinadas células, em especial de células de monócitos (Levi & Van Der Poll, 2005). Os outros mecanismos conhecidos são a regulação descendente de anticoagulantes endógenos, como o inibidor da via do fator tecidual, o sistema da proteína C ou a antitrombina e por último o mecanismo de inibição da fibrinólise (Cheng et al., 2011; Petaja, 2011). A figura (6) seguinte relaciona as interações que ocorrem no organismo entre a inflamação e a coagulação.

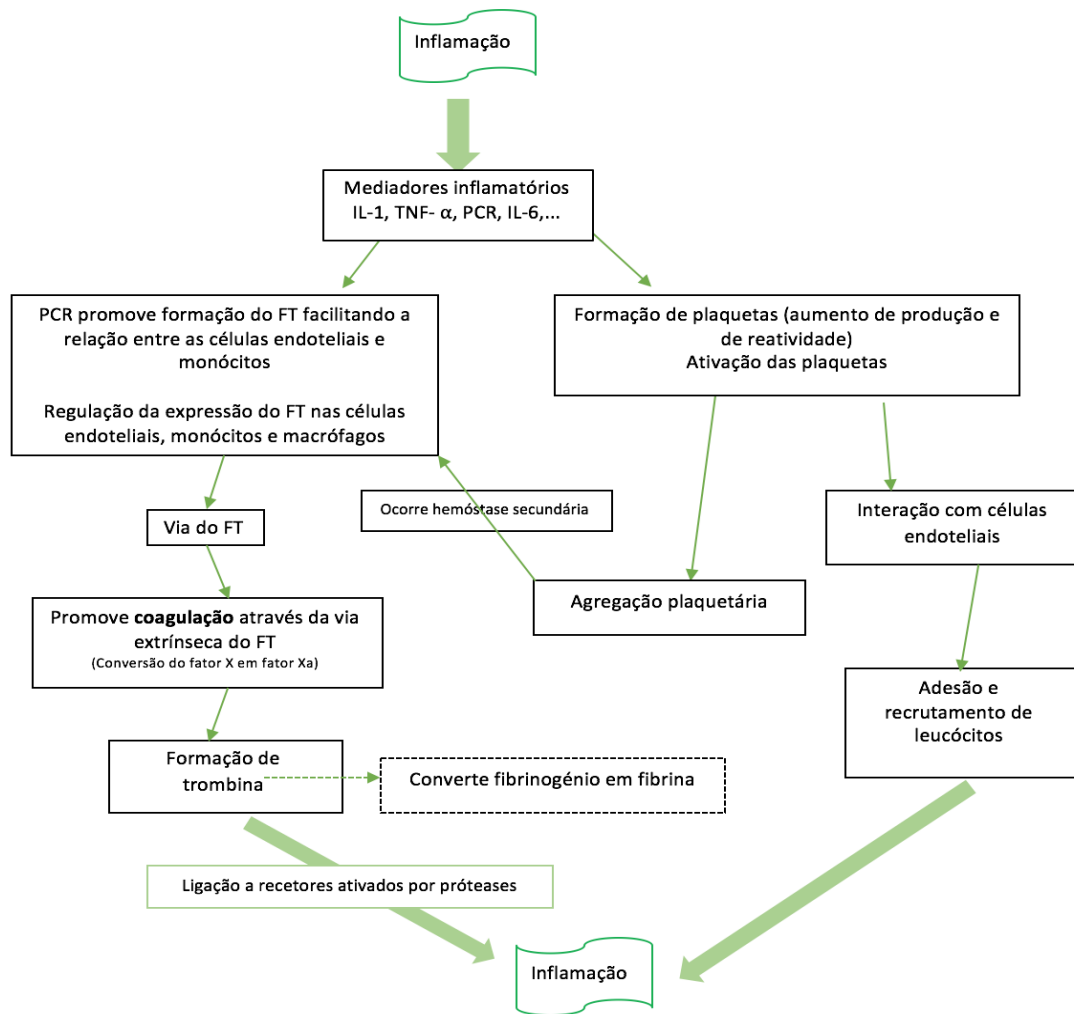


Figura 6: Descrição sumarizada da relação existente entre a inflamação e a indução da coagulação. Esquema adaptado de Cheng et al., 2011. Os mediadores inflamatórios vão influenciar a ativação plaquetária e resposta inflamatória, através de dois processos. O primeiro está relacionado com a via do FT e o segundo, está relacionado com a interação que as plaquetas apresentam com as células endoteliais. (Cheng et al., 2011). A PCR promove a formação do fator tecidual, permite uma interação facilitada entre as células endoteliais e os monócitos e através da ativação da cascata do complemento aumenta a superfície pró-coagulante providenciando um estado hipercoagulatório do organismo. (Esmon, 2005) A trombina tem ainda a capacidade de modular a resposta inflamatória através da ligação a receptores ativados por próteases (Cheng et al., 2011).

Como descrito, o sistema de inflamação exerce um efeito na modulação da coagulação, mas o contrário também se verifica, existindo uma interação mútua entre os dois sistemas. Esta interação constante pode afetar a gravidade de algumas doenças, como por exemplo doenças vasculares, a SIRS (Levi & Van Der Poll 2005) ou a sepsis (De Jong et al., 2010).

Assim, a coagulação, tem a capacidade de modular a atividade inflamatória através de ligações entre próteases coagulatórias e proteínas anti-coagulantes a células inflamatórias,

favorecendo a produção de citocinas ou até mesmo a apoptose celular inflamatória (Levi et al., 2004).

A atividade pró-coagulante é regulada através de três vias anticoagulantes sendo que, durante a coagulação induzida pela inflamação, todas podem ver a sua ação ser diminuída (Levi & Van Der Poll 2005), como ocorre com a via da proteína C, que parece ser a mais afetada por mediadores inflamatórios (Esmon, 2005; Cheng et al., 2011).

Endotoxinas e citocinas como a IL-1 β e o TNF- α tem a capacidade de regular negativamente a trombomodulina e os recetores endoteliais de proteína C (EPCR de *endothelial cell protein C receptor*), que são necessários para ativar a via da proteína C, reduzindo assim a capacidade do organismo de formar proteína C ativada (PCA) (Esmon, 2005; Cheng et al., 2011).

O inibidor da protéase de serina antitrombina e o inibidor da via do fator tecidual são outros mecanismos importantes na regulação da coagulação. O primeiro, é inibidor principal da trombina e do fator X_a, sendo que em casos de respostas inflamatórias graves os seus níveis séricos encontram-se diminuídos, como resultado de uma diminuição da sua síntese, devido à resposta de fase aguda, à degradação pela elastáse de neutrófilos ativados e ao consumo, devido à síntese de trombina (Levi et al., 2004; Levi & Van Der Poll, 2005).

Quanto ao mecanismo de inibição de fibrinólise, este é provocado pelo inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (IFAT). A ativação do IFAT está dependente de grandes quantidades de trombina e da sua capacidade para formar o complexo trombina-trombomodulina. A inibição da fibrinólise pelo IFAT ativado é secundária à ativação de plasminogénio o que provoca, conseqüentemente, uma diminuição de plasmina (responsável por dissolver coágulos de fibrina intravasculares) (Cheng et al., 2011).

Em condições normais, os mecanismos fisiológicos anti-coagulantes potenciam um método eficaz contra possíveis complicações trombóticas. No caso de ocorrer um processo inflamatório, este pode alterar o balanço hemostático do organismo, permitindo uma ativação da coagulação e em casos mais graves, pode mesmo levar à coagulação intravascular disseminada ou uma trombose (Esmon, 2005). Se ocorrer uma falha microvascular, como em casos de doentes com SIRS ou sepsis, pode desenvolver-se uma síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (Levi et al., 2004).

Doentes com sepsis revelam uma forte ativação do sistema de coagulação, que se reflete em níveis elevados de FT no plasma sanguíneo, fragmentos F1 +2 de protrombina, complexos de trombina-antitrombina e consumo de fatores de coagulação resultantes de um tempo de protrombina aumentado e de tempo de tromboplastina parcial igualmente aumentado (De Jong et al., 2010).

Um estudo da medicina humana, de Agapakis D. et al. (2010), identificou esta associação entre infeção e alterações no balanço hidrostático do organismo nos alvéolos aquando de uma infeção pulmonar. Assim em doentes acometidos com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), relacionaram a PCR e marcadores coagulatórios, como a anti-trombina II, a proteína C, D-dímeros e a degradação de fibrinogénio com a gravidade da doença. Determinaram que a medição destes parâmetros providencia informações com bastante utilidade em termos de prognóstico da doença, visto que estavam relacionados com a gravidade da mesma e foi concluído que, a utilização destes marcadores em conjunto, pode auxiliar nas decisões terapêuticas a executar em doentes com PAC (Agapakis et al., 2010).

Teresa Cheng e colaboradores, verificaram qual a relação entre os parâmetros inflamatórios (PCR e contagem de neutrófilos) e os de coagulação [tempo de protrombina (PT), tempo tromboplastina ativada (APTT), atividade antitrombina (AT) e contagem de plaquetas], em doentes afetados por uma condição patológica grave que necessitasse de internamento nos cuidados intensivos (Cheng et al., 2009).

Foi determinada a existência de uma correlação positiva entre a ACT (tempo de coagulação ativado) e APTT e a PCR, assim como com a contagem de neutrófilos. Entre a PCR e AT, foi determinada a existência de uma correlação negativa. Estes resultados permitiram concluir que, doentes caninos que apresentem uma elevação persistente dos níveis de ACT, sem terem nenhuma causa subjacente (farmacológica ou por coagulopatia), podem padecer de um processo inflamatório não identificado. Quanto ao facto da AT poder apresentar valores diminuídos no caso de inflamação, pode ter explicação no facto de esta ser uma proteína de fase aguda negativa (Cheng et al., 2009).

3.4. Relação da inflamação com os níveis de lactato e glucose

A transição que ocorre num doente com sepsis para choque séptico é acompanhada de uma série de perturbações hemodinâmicas, como o desequilíbrio entre o suprimento e a utilização de oxigénio pelo organismo, o que leva a uma hipoxia tecidual sistémica e a um choque circulatório (Rivers et al., 2007; Nguyen et al., 2010), que conseqüentemente irão contribuir para o desenvolvimento da síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e a um aumento de mortalidade (Nguyen et al., 2010).

Dos diversos biomarcadores utilizados para diagnosticar e determinar o prognóstico e manutenção da terapêutica de doentes que apresentem sepsis e choque séptico, inclui-se a medição sérica de lactato (Nguyen et al., 2010). O lactato, uma vez presente em concentrações mais elevadas que o normal, está relacionado com aumento da morbilidade e mortalidade dos doentes sépticos (Mikkelsen et al., 2009).

Os níveis elevados de lactato sérico encontrados em casos de sepsis, podem ser explicados por dois motivos. O primeiro, uma produção excessiva, o segundo, uma diminuição

do “*clearance*” (percentagem da alteração avaliada no nível de lactato 6h após a primeira medição (Nguyen et al., 2010), devido a uma disfunção de um determinado órgão, neste caso dos rins ou do fígado, ambos responsáveis pelo *clearance* do lactato (Mikkelsen et al., 2009).

Um estudo realizado por Revelly J. e colaboradores (2005), utilizando doentes com sepsis, choque séptico e choque cardiogénico, relacionou o metabolismo da lactato e da glucose. Determinaram que, a hiperlactémia dos doentes era devido ao aumento de produção do lactato, apresentando uma percentagem de *clearance* semelhante ao de sujeitos normais. Relataram ainda que a hiperlactémia está relacionada com uma hiperglicemia concomitante e com o aumento do turnover da glucose, sugerindo um envolvimento mútuo entre o metabolismo da glucose e do lactato (Revelly et al., 2005).

III- Proteína C-Reativa como indicador da síndrome de resposta inflamatória sistêmica em cães

1. Objetivos

O objetivo principal deste estudo consiste em relacionar a concentração sérica da PCR de diferentes doentes com os marcadores inflamatórios mais usais (contagem de leucócitos, nível de lactato à entrada), parâmetros vitais (temperatura, frequência cardíaca, frequência respiratória) e tempos de coagulação (tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada), cruzando também estes dados com a taxa de morbidade e mortalidades dos animais e as suas diferentes etiologias.

2. Materiais e métodos

2.1. População estudada

No presente estudo foram incluídos 28 animais da espécie canina, que se apresentaram à consulta, que se encontravam em regime de internamento ou ainda que foram admitidos em urgência. A recolha da informação relativa aos casos efetuou-se no Hospital Veterinário da Arrábida, em Azeitão, durante o período compreendido entre 1 de Outubro de 2015 e 1 de Abril de 2016. Na tabela (12) seguinte estão descritas as características de cada doente.

Tabela 12: Características dos doentes incluídos no estudo

Nome	Sexo	Raça	Idade	Etiologia
<i>Clarinha</i>	Feminino	SRD (Sem Raça Definida)	3 anos	Trauma (mordedura)
<i>Romeu</i>	Masculino	Yorkshire terrier	3 anos	Trauma (Colapso pulmonar)
<i>Gil</i>	Masculino	Bullmastiff	3 anos	Duas enterotomias devido a ingestão corpo estranho
<i>Speed</i>	Masculino	Labrador	11 anos	Síndrome cardiorenal; anúria
<i>Zé Maria</i>	Masculino	Ladrador	10 anos	Pós-operatório de uma hemilaminectomia L4-L5: fibrilação arterial, oligúria e paragem cardiorrespiratória
<i>Rotax</i>	Masculino	SRD	11 anos	Trauma (Colapso da traqueia)
<i>Kiara</i>	Feminino	Pastor Belga	12 anos	Piometra; Neoplasia no epitélio vaginal e cérvix, com peritonite
<i>Poejo</i>	Masculino	Labrador	13 anos	Neoplasia
<i>Kitty</i>	Feminino	Labrador	8 anos	Excisão de lipoma
<i>Pipa</i>	Feminino	Epagneul Breton	2 anos	Suspeita poliarterite sistémica
<i>Fanny</i>	Feminino	SRD	4 anos	Suspeita leishmaniose
<i>Woddie</i>	Masculino	SRD	6 anos	Choque compensatório
<i>Chocolate</i>	Masculino	Labrador	12 anos	Neoplasia esplénica
<i>Patinhas</i>	Masculino	Caniche	9 anos	Convulsões urémicas
<i>Snooky</i>	Masculino	Shih-tzu	11 anos	Anorexia, doente cardíaca
<i>Oddi (medição 1)</i>	Masculino	Rottweiler	9 anos	Síndrome paraneoplásico
<i>Oddi (medição 2)</i>				
<i>Oddi (medição 3)</i>				
<i>Lulas</i>	Masculino	SRD	3 anos	Análise de rickettsia positiva
<i>Luna</i>	Feminino	SRD	1 anos	Pneumotórax
<i>Ruky</i>	Masculino	SRD	6 anos	Trauma (mordedura)
<i>Kaion</i>	Masculino	Pastor alemão	<1 ano	Pneumotórax por migração de parasitas
<i>Apolo</i>	Masculino	Boerboel	2 anos	Pneumonia com análise para <i>Pneumococcus</i> e <i>Klebsiella</i> positiva
<i>Nala</i>	Feminino	SRD	16 anos	Neoplasia mamária
<i>Leonardo</i>	Masculino	SRD	12 anos	Pneumonia alveolar
<i>Amiel</i>	Feminino	Galgo	7 anos	Massa na região torácica esquerda extraluminal Suspeita de vasculite por trauma
<i>Yank</i>	Masculino	Irish Woulfhound	1 ano	Intoxicação por etilenoglicol
<i>Jade</i>	Feminino	Pastor Alemão	10 anos	Neoplasia

2.2. Critérios de seleção

Foram selecionados para o estudo cães, de todas as raças, de ambos os gêneros e de idades compreendidas entre os 5 meses até aos 16 anos.

Foram incluídos doentes:

- crônicos ou agudos, que apresentassem sinais de uma resposta inflamatória sistêmica;
- considerados em estado crítico;
- sujeitos a cirurgia.

Foram excluídos deste estudo todos os doentes da espécie felina.

Os animais que efetivamente se encontravam em SIRS, foram avaliados através da verificação da alteração de pelo menos 2 parâmetros, adaptados dos critérios propostos por Silverstein et al. (2015): temperatura inferior a 38,1°C ou superior a 39,2°C; frequência cardíaca superior a 120 bpm, frequência respiratória superior a 20 rpm, WBC com valores inferiores a 5,50 $k/\mu L$ ou superiores a 16,90 $k/\mu L$ (Silverstein, 2015).

Os doentes foram posteriormente divididos em quatro grupos, “doentes com SIRS e PCR aumentado; doentes com SIRS e PCR normal; doentes sem SIRS e PCR aumentado e doentes sem SIRS e PCR normal”.

2.3. Recolha e análise das amostras

Os animais presentes neste estudo foram sujeitos a vários tipos de análises para obter os valores de todos os parâmetros necessários. Seguidamente serão descritos todos os processos realizados:

- *Parâmetros vitais:*

Durante a admissão no HVA, para obter a temperatura, frequência cardíaca e respiratória, os animais foram sujeitos aos procedimentos normais, nomeadamente recolha da temperatura rectal, medição da frequência cardíaca através da auscultação cardíaca ou através dos valores obtidos na eletrocardiograma e a frequência respiratória através da observação do padrão respiratório e respetiva auscultação pulmonar.

- *Colheita e análise de sangue para análise da contagem de leucócitos (WBC):*

Para recolha das amostras de sangue, os animais foram todos submetidos ao mesmo processo: tricotomia da zona (pescoço para venopunção da jugular ou membro dianteiro para venopunção da veia cefálica) e posterior assepsia com algodão embebido em álcool a 70%, sendo a recolha realizada através de seringas estéreis descartáveis B.Braun de 5ml e agulhas descartáveis Sterican G21 0,9x25mm. Foram retirados cerca de 3 a 5 ml de sangue venoso a cada doente, sendo depois colocado num tubo de hematologia com anticoagulante (EDTA de *Ethylenediamine tetraacetic acid*) para posterior análise do perfil hematológico completo

do doente, na máquina IDEXX VetLab® Station juntamente com a LaserCyte® Dx Hematology Analyzer.

- *Lactato*

Para verificação da concentração de lactato, aquando da admissão do doente, foi realizada apenas uma medição no aparelho EDGE Lactate Analyser, através da colocação de uma gota de sangue total jugular, diretamente da seringa. Foi utilizada uma tira de análise de lactato, tendo esta sido inserida na máquina, sendo que a leitura da concentração do lactato demora cerca de 45 segundos e o valor é exibido no visor LCD do aparelho.

- *Tempos de coagulação*

O processo para medição dos tempos de coagulação, neste caso específico, de APTT e PT, foi efetuado no aparelho qLabs® Vet, com um processo semelhante ao realizado para o lactato. Foi colocada uma gota (10-20 μ L) de sangue venoso total diretamente da seringa, para uma das tiras de teste, que são inseridas na máquina. Os canais capilares transportam o sangue para as zonas de reação que contêm elétrodos metálicos. Estes, vão detetar as alterações provocadas pela coagulação do sangue (ao reagir com os reagentes), permitindo assim a determinação dos tempos de APTT e PT em cerca de 1 a 2 minutos.

- *Proteína C-Reativa*

Para proceder à análise das amostras de sangue, para deteção do valor sérico de PCR, foi utilizado um kit de teste LifeAssays® Canine CRP. Este kit é composto por 20 tubos com regente (0,75 μ L de 0,1% N_aN_3) e 25 capilares de vidro para recolha das amostras. Foi utilizado um leitor de permeabilidade magnética, o LifeAssays® Veterinary Reader, com um chip descartável, que através de um algoritmo, permite uma melhor monitorização e controlo do sistema. Adicionalmente, foi ainda necessário a utilização de um vórtex, nomeadamente o LifeAssays® Vortex.

Foi realizada uma recolha de sangue venoso total, com o procedimento acima descrito, sendo este colocado num tubo seco e posteriormente centrifugado, a 2000 rpm, durante 5 minutos, de modo a obter a separação do soro sanguíneo.

Para iniciar a análise da amostra, ao ligar o detetor de permeabilidade magnética era necessário aguardar aproximadamente 10 minutos para que a temperatura atingisse um equilíbrio, permitindo assim a estabilização do aparelho.

Após este tempo, foi colocado no aparelho um tubo seco com reagente, sendo depois transferido, para esse mesmo tubo, com o auxílio de um capilar de vidro, uma amostra de soro de 5 μ L (proveniente do tubo seco já centrifugado). De seguida, colocou-se esta solução no vórtex, durante 30 segundos, com o intuito de se proceder à sua homogeneização. Após este período, o tubo era colocado de novo no detetor de permeabilidade magnética, que efetuava

a leitura automaticamente, sendo que após 11 minutos, o valor de PCR da amostra era revelado no visor do aparelho em mg/L.

O teste que foi realizado às amostras de sangue é baseado no teste imunológico de alta-sensibilidade de permeabilidade magnética. As partículas de sílica (nano e micropartículas), presentes no reagente, apresentam um revestimento de anticorpos policlonais, que se vão ligar à PCR presente na amostra, formando um complexo “sandwich”. Depois de colocado do detetor de permeabilidade magnética, durante o tempo de leitura (11 minutos), as micropartículas ligadas à PCR sedimentam. Através da deteção da mudança de indutância da bobina interna, no detetor de permeabilidade magnética, é realizada a medição quantitativa das propriedades dos complexos que sedimentaram, sendo desta forma obtido o valor sérico da PCR.

A análise da PCR foi realizada 1 vez em cada caso, após a intervenção cirúrgica ou na admissão em internamento no HVA dos doentes.

3. Resultados

Considerando os critérios de inclusão e de exclusão definidos para este estudo, ao longo do período em que decorreu a recolha de dados, foi possível obter uma amostra de 28 cães, a partir da qual foi possível adquirir informação relativa a diversas variáveis, nomeadamente:

- Variáveis intrínsecas - género, idade, raça
- Variáveis extrínsecas – etiologia, temperatura, frequência cardíaca, frequência respiratória, WBC, PCR, lactatémia, APTT, PT, número dias de internamento (morbilidade) e sobrevivência.

Com a informação recolhida relativamente à sobrevivência dos animais foi possível estimar a taxa de mortalidade da amostra.

Os dados foram submetidos a uma análise estatística descritiva, bem como a uma análise estatística inferencial, baseada em testes t e ANOVA para comparação de médias e em correlações de Pearson. Todas as variáveis foram categorizadas para ser também possível o seu tratamento como variáveis categóricas, estimando-se assim as relações existentes entre variáveis através de testes de chi-quadrado.

3.1. Análise estatística descritiva

Dos 28 casos estudados, 17 (60,7%) constituíram o grupo dos animais com SIRS, enquanto que os restantes 11 (39,3%), não tinham SIRS.

No que diz respeito ao género, 19 casos (67,9%) pertenciam ao género masculino e 9 (32,1%) pertenciam género feminino.

Não pretendendo mais do que o carácter descritivo da seguinte exposição, no que diz respeito à raça, a amostra contemplou 12 raças distintas e um grupo de animais sem raça definida (SRD).

O grupo de animais de raça constituía 67,9% da amostra (19 casos) enquanto que o grupo de animais de raça indeterminada, incluía 9 casos (32,1%).

De modo a se proceder à análise da distribuição das diferentes faixas etárias, formaram-se três grupos, tendo-se considerado como jovem, uma idade inferior a dois anos, adulto entre 2 a 8 anos e geriátrico uma idade superior a 8 anos. A Tabela 13 apresenta a distribuição da amostra de acordo com as faixas etárias

Tabela 13: Distribuição da amostra de acordo com as faixas etárias

	Frequência	%
<i><1 a 2 anos</i>	5	17,9
<i>2 a 8 anos</i>	8	28,6
<i>8 a 17 anos</i>	15	53,6

Quanto às diferentes etiologias encontradas, de forma a dispersar menos as variáveis, foram distribuídas por apenas 4 grupos, detalhados na Tabela 14. As doenças sistémicas foram a etiologia mais prevalente, com 42,9% dos casos, seguindo-se as doenças neoplásicas com 25% e as urgências com 21,4% dos casos. Por último foram registadas as cirurgias, sendo 10,7% dos casos estudados.

Tabela 14: Distribuição da amostra de acordo com a etiologia apresentada

	Frequência	%
<i>Doenças sistémicas (medicina interna)</i>	12	42,9
<i>Doenças neoplásicas</i>	7	25%
<i>Cirurgias</i>	3	10,7
<i>Urgências</i>	6	21,4

3.2. Análise estatística inferencial

3.2.1. Síndrome de resposta inflamatória sistémica

A análise inicial pretendeu avaliar a existência de relações significativas entre a presença de SIRS e as diferentes variáveis em estudo. Numa primeira abordagem foram realizados testes de chi-quadrado, verificadas as relações entre a presença ou ausência de SIRS e as variáveis categorizadas.

Não foi detetada uma relação significativa entre a presença de SIRS e a etiologia apresentada. Ainda assim, parece relevante apontar a maior incidência de SIRS em casos de urgências, nos quais mais de 80% dos animais apresentaram esta condição (como se pode ver no gráfico 3. O mesmo raciocínio poderia ser sugerido para as doenças neoplásicas, em cujos casos, mais de 70% dos animais apresentaram SIRS. Esta interpretação deve, ainda assim ser cautelosa, devido ao reduzido número de casos associado a cada tipo de etiologia.

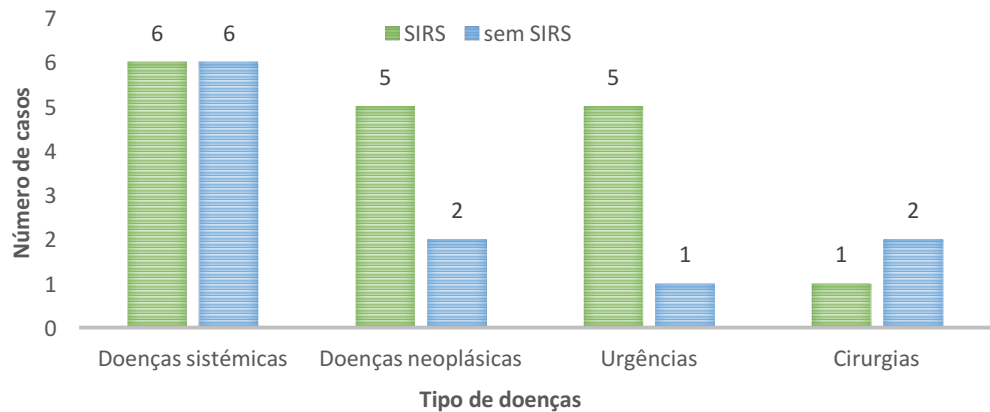


Gráfico 3: Etiologias em presença ou ausência de SIRS

Foi detetada uma relação entre a ocorrência de SIRS e a frequência cardíaca (χ^2 (1, N=28) = 8,582, $p = 0,004$), podendo-se sugerir (como se pode perceber pelo Gráfico 4), que o aumento da frequência cardíaca está provavelmente associado à ocorrência de SIRS.

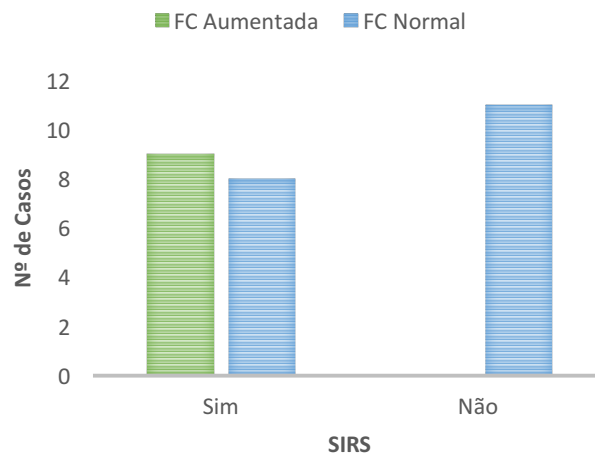


Gráfico 4: Frequência Cardíaca em presença ou ausência de SIRS

Concomitantemente, foi também detetada uma relação entre a ocorrência de SIRS e a frequência respiratória (χ^2 (1, N=27) = 12,963, $p = 0,001$), podendo-se sugerir (como se

pode perceber pelo Gráfico 5), que o aumento da frequência respiratória está provavelmente associado à ocorrência de SIRS.

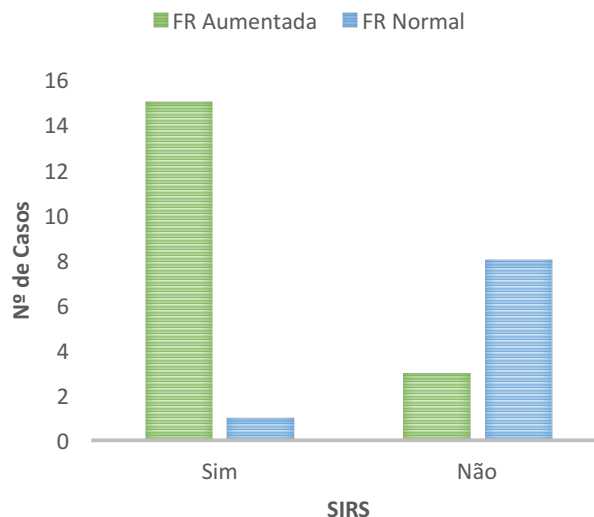


Gráfico 5: Frequência Respiratória em presença ou ausência de SIRS

A presença de SIRS parece estar também relacionada com a tendência para valores diminuídos de WBC (χ^2 (2, N=26) = 9,066, p = 0,003) e superiores a 102 de APTT (χ^2 (2, N=28) = 8,535, p = 0,011).

Não foram encontradas relações significativas entre a presença de SIRS com a PCR, os níveis de lactato ou o PT.

Considerando a morbidade, pode-se considerar a existência de uma relação significativa com a presença de SIRS. A média do tempo de internamento de animais com SIRS é de 6,76 dias \pm 2,48, enquanto que no caso dos animais sem SIRS é de 2,64 \pm 1,22 (p = 0,012)

Finalmente, não foi detetada uma relação entre a ocorrência de SIRS e a sobrevivência dos animais. Ainda assim, importa referir que a taxa de mortalidade dos animais com SIRS é 22 pontos percentuais superior à dos animais sem SIRS, como se pode avaliar pela tabela 15.

Tabela 15: Sobrevivência em presença ou ausência de SIRS

SIRS	Sobrevivência (%)	
	Sim	Não
Sim	41,2	58,8
Não	63,6	36,4

3.2.2. Lactatémia

Posteriormente pretendeu-se avaliar a existência de relações significativas entre os níveis de lactato e as restantes variáveis de interesse, a saber: taxas de morbilidade e mortalidade, valores de PCR e tempos de coagulação.

Foram formados 4 grupos de doentes, consoante o nível de lactato sérico que apresentavam. O primeiro grupo foi composto por doentes com normolactatémia (<3 mmol/L), o segundo por doentes com hiperlactatémia leve (3-5 mmol/L), o terceiro grupo apresentava doentes com hiperlactatémia moderada (5-8 mmol/L) e por último, o quarto grupo composto por doentes com uma hiperlactémia grave (>8 mmol/L).

Numa primeira abordagem verificou-se a existência de relações entre a lactatémia e a morbilidade, definida como a duração do internamento. O teste ANOVA realizado não permitiu encontrar semelhante relação. Ainda assim, é relevante notar a tendência decrescente da média do tempo de internamento com o aumento dos valores de lactatémia (Gráfico 6).

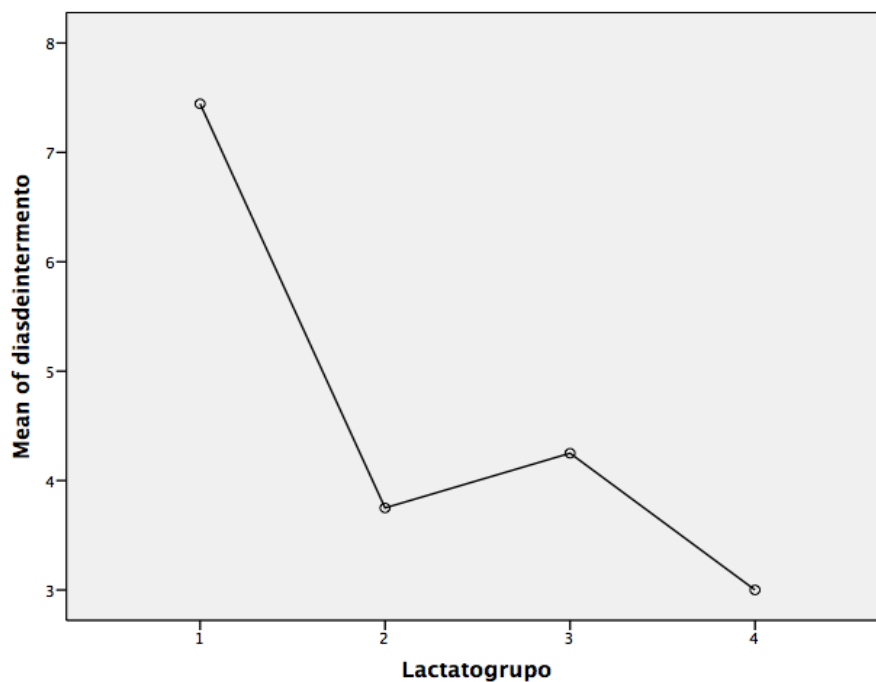


Gráfico 6: Média de dias de internamento por grupo de lactatémia

Por outro lado, foi encontrada uma relação tendencialmente significativa entre os grupos de lactatémia e o nível de PCR (χ^2 (3, N=26) = 6,234, $p = 0,061$). Como se pode ver pelo Gráfico 7, a PCR dentro de intervalos considerados normais (valores inferiores a 35 μ g/ml) está apenas associada a níveis de lactatémia inferiores. Verificou-se que maior proporção de casos com PCR aumentada (valores superiores a 35 μ g/ml) estão associados à normolactatémia.

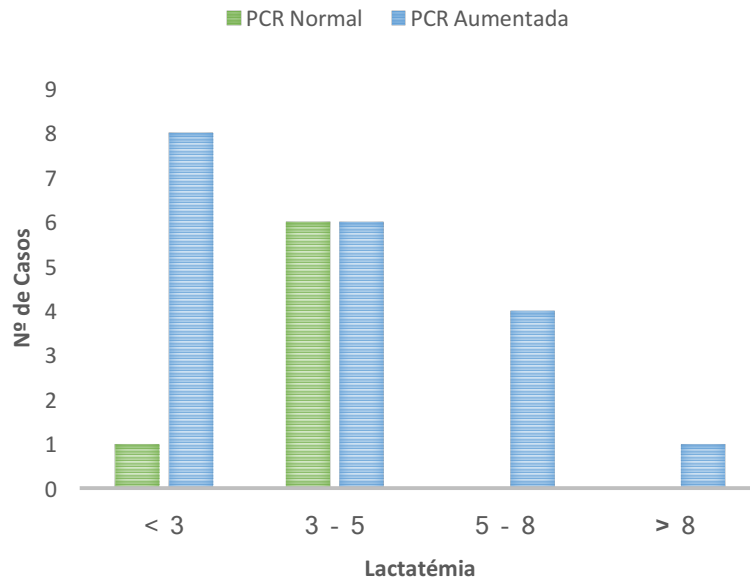


Gráfico 7: Nível de PCR por grau de lactatémia

Utilizando um teste ANOVA para comparação da média do valor de PCR (não do intervalo) em cada intervalo de lactatémia, não se detetou nenhuma relação significativa. Ainda assim, pode ser interessante verificar (Gráfico 8) o elevado valor médio de PCR associado ao intervalo de lactatémia de 5 a 8 mmol/L.

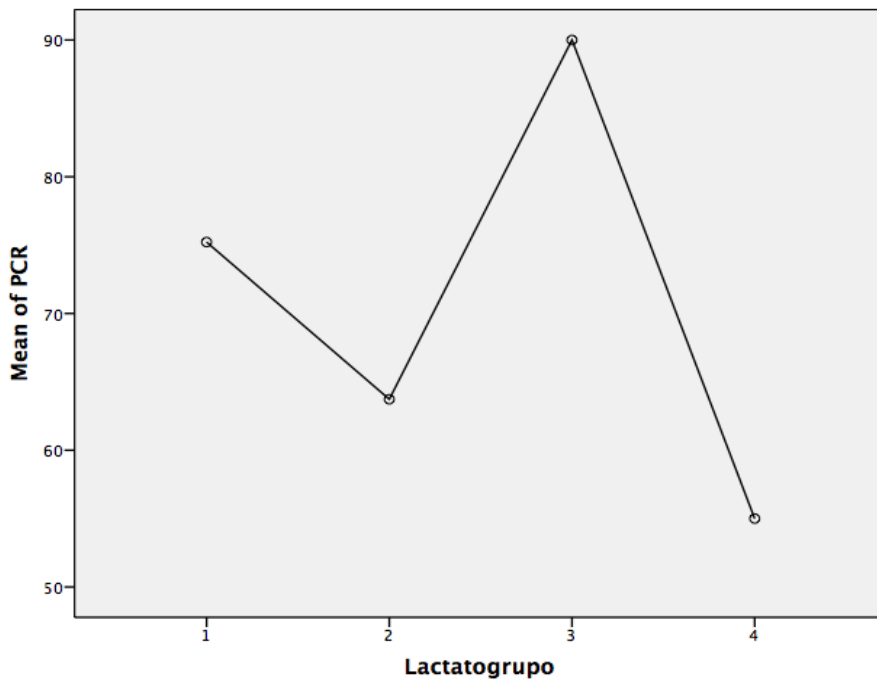


Gráfico 8: Média de PCR por grupo de lactatémia

Considerando a relação entre a lactatémia e o APTT, não foram encontradas relações significativas nem dados de particular relevância.

Já no caso da relação da lactatémia com o PT, foi encontrada uma relação significativa ($F(3, 22) = 3,459, p = 0,034$). Como se pode ver pelo gráfico 9, existe uma diferença significativa no nível de PT para o intervalo de lactato > 8 mmol/L, sendo que as PT nesse intervalo de lactatémia são significativamente inferiores. Para os restantes intervalos de lactatémia não foram detetadas diferenças significativas.

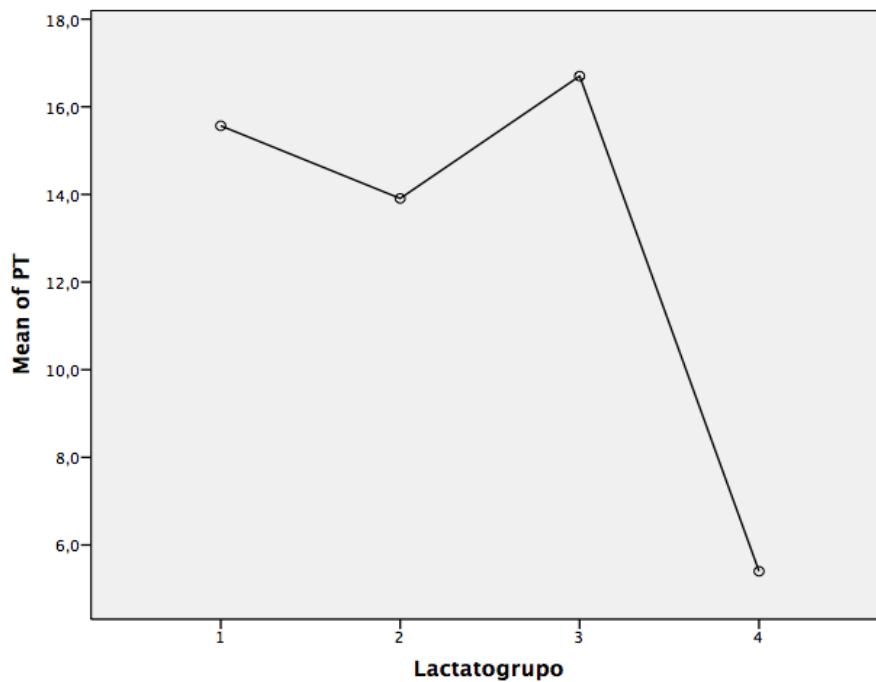


Gráfico 9: Média de PT por grupo de lactatémia

Tendo em conta a morbidade dos casos, não foi encontrada uma relação significativa entre o período de internamento e a lactatémia. Ainda assim, note-se (Gráfico 10), o marcado grau superior de lactatémia associado aos animais com menor período de internamento.

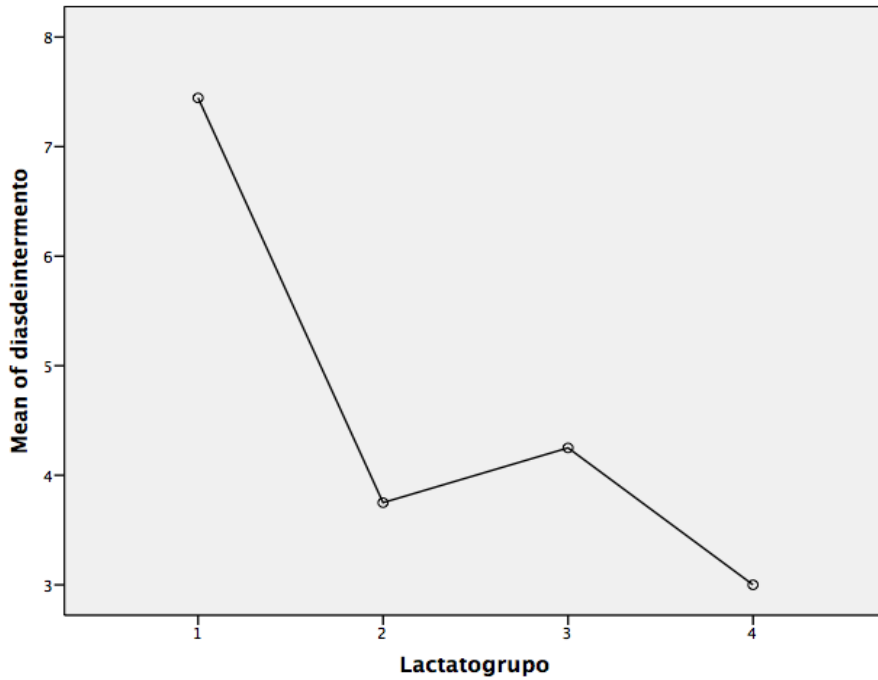


Gráfico 10: Média de dias de internamento por grupo de lactatémia

No que diz respeito à mortalidade, foi detetada uma relação significativa desta com o intervalo de lactatémia (χ^2 (3, N=26) = 8,005, $p = 0,046$). Como se pode perceber, pelo Gráfico 11, os casos de animais que sobreviveram estão associados a níveis mais baixos de lactatémia.

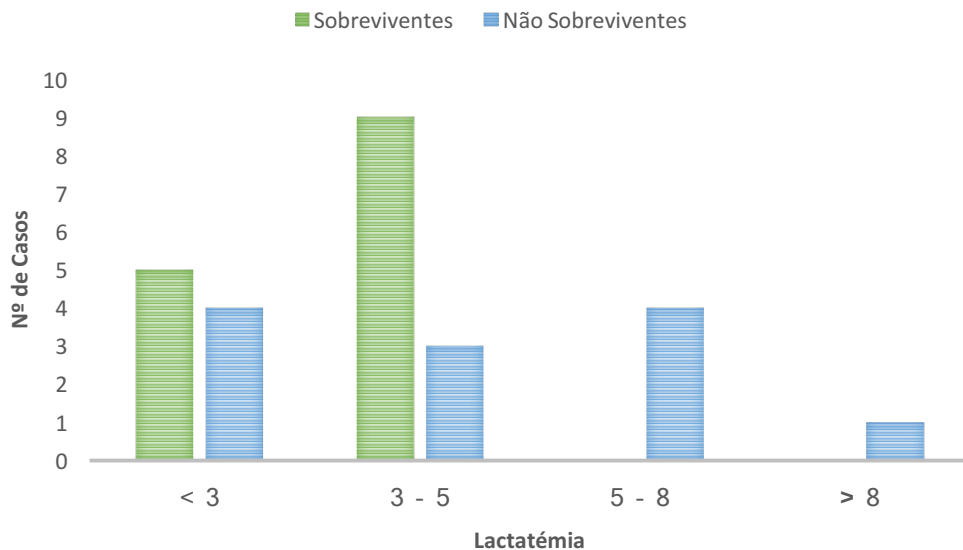


Gráfico 11: Sobrevivência por grau de lactatémia

Na mesma sequência, podemos verificar a existência de uma relação tendencialmente significativa ($p = 0,099$) entre a média do valor de lactatemia de sobreviventes ($3,031 \pm 0,698$ mmol/L) e não sobreviventes ($4,317 \pm 1,451$ mmol/L).

3.2.3. Proteína C-Reativa

Posteriormente pretendeu-se avaliar a existência de relações significativas entre os níveis de PCR e as restantes variáveis de interesse, a saber: tempos de coagulação, morbidade e mortalidade, bem como os diferentes grupos de etiologias.

Estes casos não permitiram detetar a existência de uma relação significativa entre o nível de PCR (normal ou aumentada) e os doseamentos de APTT e PT, não parecendo assim existir uma relação entre a PCR e os tempos de coagulação.

Também não foi encontrada uma relação significativa entre o nível de PCR e o tipo de doença presente. Parece, contudo, ser interessante notar a maior proporção de casos de doença sistêmica (66,6%), doença neoplásica (85,7%) e cirurgia (100%) que apresentam PCR aumentada (gráfico 12). Esta observação deve ser analisada no contexto do pequeno número de casos da amostra.

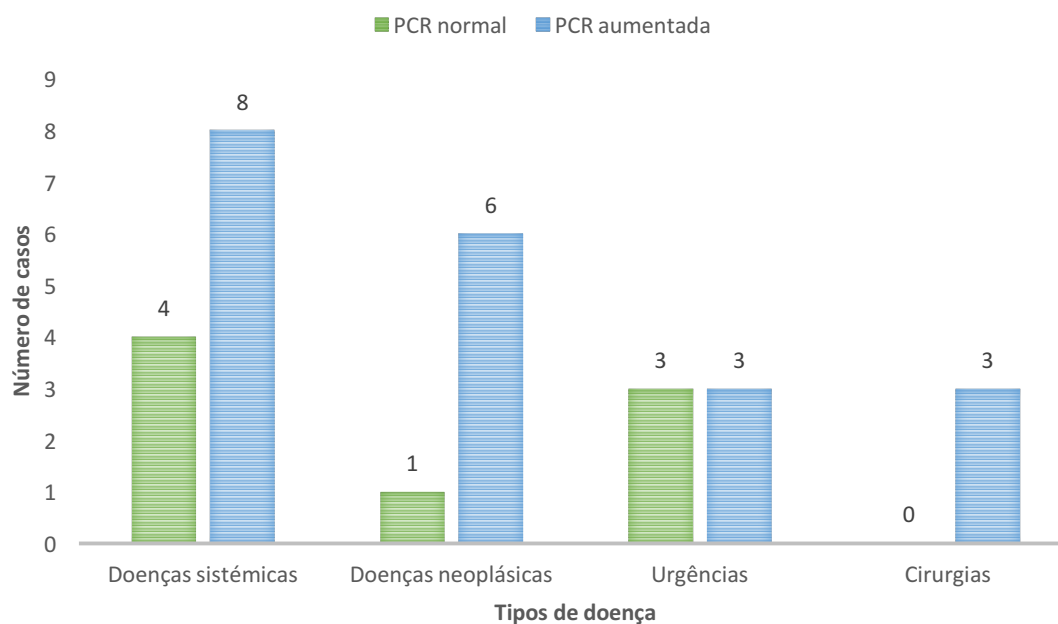


Gráfico 12: Nível de PCR por tipo de etiologia

Não foi encontrada qualquer tipo de relação significativa ou de interesse entre a PCR e quer a morbidade (ou seja, a média de tempo de internamento), quer a sobrevivência dos animais.

3.2.4. Síndrome de Resposta Inflamatória sistêmica e Proteína C-Reativa

Finalmente, foram analisadas as relações entre os diferentes grupos definidos pela presença ou ausência de SIRS e o nível de PCR, com as restantes variáveis. Definiram-se quatro grupos, distribuídos conforme presente na tabela seguinte (16):

Tabela 16: Distribuição dos casos consoante a condição SIRS e PCR

<i>Casos com SIRS e PCR aumentada (1)</i>	14
<i>Casos sem SIRS e PCR aumentada (2)</i>	6
<i>Casos com SIRS e PCR normal (3)</i>	3
<i>Casos sem SIRS e PCR normal (4)</i>	5

Foram encontradas relações tendencialmente significativas entre os grupos definidos e as frequências cardíaca ($F(3, 27) = 2,988, p = 0,051$) e respiratória ($F(3, 26) = 2,913, p = 0,056$). Como se pode verificar no gráfico 13, a frequência cardíaca tenderá a ser menor nos casos sem SIRS e com PCR normal, quando comparada com os restantes três grupos, para os quais tende a surgir de alguma forma aumentada. A maior elevação da frequência cardíaca parece estar associada à presença concomitante de SIRS com PCR aumentada.

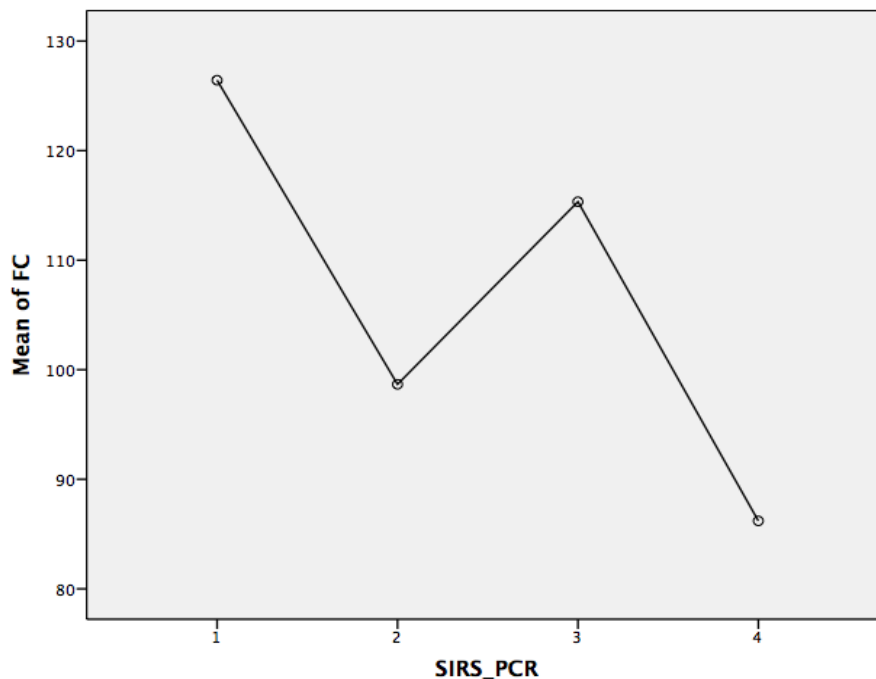


Gráfico 13: Média de Frequência cardíaca em presença / ausência de SIRS / PCR

Já no caso da frequência respiratória, como se pode perceber pelo Gráfico 14, parece estar significativamente mais elevada nos casos de presença concomitante de SIRS com PCR aumentada, quando comparada com os outros três grupos.

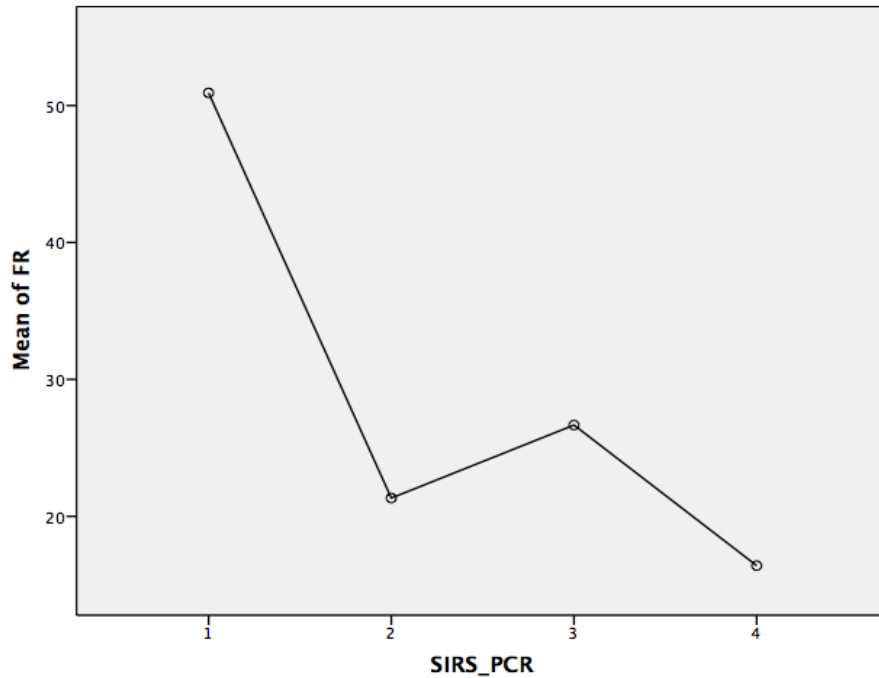


Gráfico 14: Média de frequência respiratória em presença / ausência de SIRS / PCR

Foi também detetada uma relação significativa da APTT com os grupos definidos de acordo com a SIRS e a PCR ($F(3, 24) = 6,748, p = 0,002$). Como o gráfico 15 demonstra, os casos em que a PCR está aumentada, mas em ausência de SIRS parecem ter uma média significativamente menor de APTT.

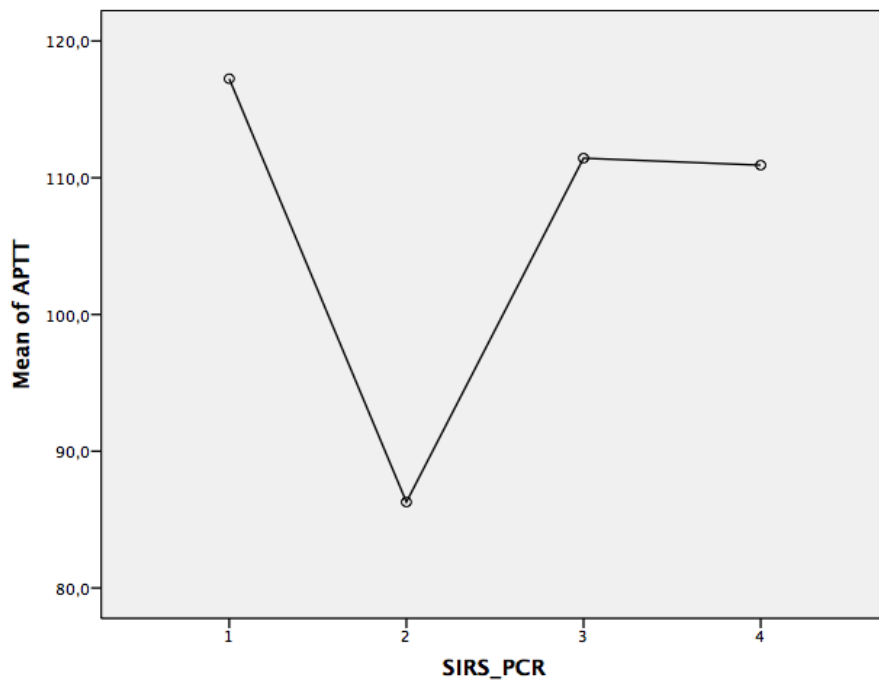


Gráfico 15: Média de APTT em presença / ausência de SIRS / PCR

Não foram encontradas outras relações significativas ou com relevância para esta dissertação.

4. Discussão

O presente estudo, pretende demonstrar a importância de efetuar uma caracterização rápida e preventiva da presença de SIRS, estabelecendo biomarcadores inflamatórios e determinando se o valor analítico da PCR pode exercer essa diretriz clínica, uma vez que, em cães, é a proteína de fase aguda cuja concentração aumenta mais rapidamente face a uma inflamação.

A amostra deste estudo consiste em 28 animais, dos quais 67,9% são do sexo masculino, sendo ainda verificado, que mais de metade, apresenta uma idade superior a 8 anos. Estes dados, estão de acordo com o estudo de Gebhardt et al. realizado em 2009, cuja amostra é abrangida por 57% de cães do sexo masculino e com uma média de idades de 9 anos.

Relativamente à presença de SIRS, nos animais incluídos neste estudo, foi detetada uma relação entre esta e o aumento da frequência cardíaca e da frequência respiratória, assim como uma tendência para a presença de leucopénia. Segundo a literatura, para ser diagnosticado com SIRS, um animal tem de apresentar dois ou mais destes sinais clínicos: taquicardia, taquipneia, hiper ou hipotermia, leucocitose ou leucopénia; assim sendo, este estudo está de acordo com o descrito por Hauptam et al. (1997), Gebhardt et al. (2009), Ripanti et al. (2012) e Siverstein et al. (2015).

Em relação aos tempos de coagulação, foi detetada a existência de uma relação, tendencialmente significativa, para animais com SIRS apresentarem valores aumentados de APTT, o que está em concordância com estudo efetuado por De Jong et al. em 2010. Contudo, neste estudo, não foram detetadas relações entre a presença de SIRS e o PT, facto este justificável, pela variedade considerável de etiologias e consequentes estados hemodinâmicos que foram incluídos na amostra.

No que diz respeito à relação entre a presença de SIRS e os grupos em que as diferentes etiologias foram dispostas, a análise estatística inferencial, não revelou qualquer relação significativa. Porém, no grupo de etiologias, relativo a medicina de urgência, 80% dos casos apresentavam SIRS, sendo que, apenas um, mostrava sinais clínicos de uma síncope derivada de um colapso traqueal, não apresentando SIRS. Uma vez que o colapso traqueal é uma doença progressiva que provoca a degeneração dos anéis traqueais, não costuma estar associada à presença de SIRS, sendo estes dados descritos por Tappin em 2016. Concomitantemente, neste caso não foi registada qualquer alteração nos níveis de PCR, pelo que se pode inferir que, a doença apresenta uma fraca estimulação inflamatória, estando de

acordo com Nakumura e colaboradores em 2008, pois no estudo que efetuaram, incluíram 11 casos de colapso traqueal e nenhum registava elevação nos níveis de PCR (Nakamura et al., 2008).

Ao interpretar os casos, referentes ao grupo etiológico de medicina de urgências, que apresentavam diagnóstico de SIRS, três deles são traumas, um é uma cirurgia de urgência (laparotomia exploratória) e outro um choque compensatório devido a um hemoabdómen e hepatopatia secundária. Uma vez que estas etiologias apresentam todas um estímulo inflamatório, seria expectável o diagnóstico de SIRS nestes doentes, sendo que estes resultados estão em conformidade com um estudo de medicina humana, realizado por Robertson e Coopersmith em 2006, onde determinaram que casos de trauma e cirurgia estão na origem da SIRS. Em medicina veterinária, no ano de 2011, Brady e Otto, também confirmaram estes resultados, referindo que traumas tecidulares são causas comuns de SIRS não infecciosa.

Em relação ao grupo de doenças neoplásicas, 70% dos animais acometidos apresentam SIRS, estando em concordância com o descrito, mais uma vez, por Brady e Otto em 2001.

Quanto à descrição da mortalidade, na amostra dos animais que apresentaram SIRS, foi verificado que 58% não sobreviveram. O valor registado neste estudo é um pouco superior ao descrito na literatura, sendo que, em 2009, na investigação efetuada por Gebhardt e colaboradores em 2009, a taxa de mortalidade foi de 42%, enquanto que Rau et al., em 2007, descrevem uma taxa de mortalidade de 48%.

No que diz respeito à avaliação da morbilidade dos doentes com SIRS, verificou-se que a média de internamento foi de aproximadamente 6,8 dias, sendo este valor semelhante ao registado no estudo de Rau et al. em 2007 (média 5,7 dias) e por Gedhardt et al., em 2009. (5 dias).

Ao proceder à análise da PCR com as restantes variáveis, não foram encontradas relações significativas estatisticamente. Contudo, registou-se um aumento dos níveis séricos da PCR em 100% dos casos que compõem o grupo etiológico das cirurgias. O nível mais elevado foi registado numa enterotomia, devido a ingestão de corpo estranho (120µg/ml). Neste caso, seria espectável encontrar um valor aumentado de PCR, não só devido à extensão da cirurgia, mas também porque qualquer alteração na mucosa intestinal pode levar a um aumento do número de bactérias entéricas e toxinas, perpetuando um estado de endotoxémia e promovendo a libertação de citocinas através dos macrófagos, o que levaria a um aumento do nível de PCR, como referido por Wang e Andersson em 1994.

Ainda neste grupo, temos representado um caso de uma hemilaminectomia (L4-L5), referente a um doente em pós-cirúrgico, cujo valor da PCR não foi determinado logo após a

cirurgia, uma vez que esta não foi realizada no HVA. Desta forma, é possível explicar porque o valor de PCR, dada a extensão da cirurgia, não é muito elevado (55 $\mu\text{g/ml}$). O último caso, é referente a uma excisão de um lipoma e sendo uma cirurgia menos complexa, o valor de PCR apenas apresentou um ligeiro aumento (39 $\mu\text{g/ml}$). Estes resultados são confirmados por Céron e colaboradores, em 2005 e por Yamamoto et al. em 1993; que referem que, em cirurgias, os níveis de PCR estão normalmente relacionados com a extensão do trauma cirúrgico.

Relativamente às doenças neoplásicas, 85,7% da amostra registou um aumento de PCR, dados que se encontram em concordância com a literatura atual (Kjelgaard-Hansen, Jensen et al., 2003a; Nakamura et al., 2008; Tecles et al. 2005, 2009). Da amostra total, apenas um caso apresentava valores normais de PCR, sendo referente a um doente com uma neoplasia mamária. Era provável encontrar esta normalidade da concentração sérica de PCR, uma vez que os tumores mamários não produzem um grande aumento da produção de PFA e, como não se registava a presença de metástases ou ulcerações, não iria haver estimulação inflamatória suficiente para elevar os níveis de PCR. Estes dados estão em concordância com o estudo efetuado por Tecles e colaboradores em 2005, onde é especificado que os tumores mamários produzem uma fraca estimulação de PFA e mais tarde, em 2009, também por Tecles et al., que descrevem que apenas casos com metástases e ulcerações produzem alterações significativas nas concentrações de PCR.

Em relação às doenças sistémicas, ou seja, relativamente aos casos de medicina interna, 66,6% dos casos apresentavam PCR aumentada. Metade são concernentes a doenças respiratórias, nomeadamente pneumonias (16,65%) e pneumotórax (16,65%). Estes resultados estão de acordo com Viitamen et al. em 2014, que relatam um aumento de PCR em casos de broncopneumonia, assim como por Nakamura et al. em 2008, que indicam a presença de elevados valores de PCR associados a broncopneumonias e pneumonias.

Quanto aos outros casos de doentes que apresentam elevação da concentração de PCR, um é referente a uma poliartrite idiopática e outro a uma vasculite por trauma. Ambos os casos estão em concordância com os dados obtidos por Ohno et al. em 2006 e em medicina humana no estudo de Marnell et al., realizado em 2005.

Relativamente ao doente com um diagnóstico de síndrome cardiorenal, este apresentou uma elevação muito discreta da PCR, tendo sido registado um nível de 35 $\mu\text{g/mL}$, ou seja, o valor mínimo para que seja considerada a existência de uma inflamação. Uma vez que se trata de uma inflamação crónica, é espectável que a elevação da PCR não seja muito elevada, tal como é confirmado nos estudos de Colombo e colaboradores em 2012.

Por fim, ainda relativo aos casos do grupo etiológico de doenças sistémicas, foi registado o caso de uma intoxicação por etilenoglicol. Uma vez que este animal já apresentava

sinais de intoxicação antes da sua admissão, aquando do início do tratamento, já apresentava várias alterações sistémicas, quer a nível hematológico (leucopénia grave), neurológico (estupor) ou metabólico (acidose metabólica, desidratação), sendo que a alteração a nível de PCR registada está associada com a presença de SIRS neste doente. Estes dados estão em concordância com o descrito por Grauer em 2016 e em medicina humana, por Castelli et al., em 2003.

Quanto à avaliação do nível de lactato, embora as relações encontradas não tenham sido significativas estatisticamente, relativamente à morbilidade, é de notar que valores de lactato mais elevados à entrada estão associados a um menor período de internamento. Este resultado é justificado pelo facto de o único doente que apresentou valores de lactato superiores a 8 mmol/L (hiperlactatémia grave), estar apenas três dias internado, isto, porque não sobreviveu. O mesmo aconteceu com os animais que pertencem ao grupo correspondente a uma hiperlactatémia moderada, pois apresentam uma média baixa de dias de internamento, uma vez que não sobreviveram.

Quanto aos animais com normolactémia, o período de internamento foi sempre superior a uma semana, sendo que, num dos casos, esteve vinte dias em internamento. Estes dados demonstram que, quanto maior o nível de lactato sanguíneo à entrada, maior a probabilidade de os doentes não sobreviverem. Esta relação é ainda demonstrada ao analisar a relação do lactato com a taxa de mortalidade. Os animais que sobreviveram apresentam níveis de lactato mais baixos e todos os doentes, com níveis de lactato superiores a 5 mmol/L, não sobreviveram. Estes dados estão em concordância com o que está descrito na literatura (Kobayashi et al., 2001; Cicarelli et al., 2007; Mikkelsen et al., 2009).

Foi ainda determinado que a média do valor de lactato de sobreviventes foi de aproximadamente 3 mmol/L, sendo inferior à média dos não sobreviventes, que se registou nos 4,3 mmol/L. Mais uma vez, estes resultados, vem apoiar a teoria que, na admissão, níveis mais altos de lactato podem prever a mortalidade dos doentes. (Kobayashi et al., 2001)

Quanto à relação entre a PCR e o lactato, foi determinado neste estudo que a maior quantidade de casos com a PCR elevada apresentavam normolactatémia. Estes resultados são explicados pelo facto de o lactato ser considerado um biomarcador de perfusão sanguínea, como confirmam Munoz e os seus colaboradores em 2000, enquanto que a PCR é um biomarcador de substâncias pró-inflamatórias, como por exemplo a IL-6 e a IL-1, ambas responsáveis pela sua síntese (Heinrich et al., 1990). Estes dados comprovam que, em muitas das situações clínicas em que o animal apresenta SIRS, o valor de lactato pode não estar elevado, mas o de PCR sim, isto porque uma reação inflamatória pode ser independente da presença de uma má perfusão dos tecidos, ou seja, de uma oxigenação fraca a nível tecidular, como referem num estudo de medicina humana, Vilar e colaboradores, em 1990.

Por outro lado, ao comparar a média do valor de PCR dos doentes, em cada intervalo de lactatémia designado, verifica-se que o maior nível de PCR está associado a uma hiperlactatémia moderada (5-8 mmol/L). Estes dados demonstram que, se existe um aumento de PCR, concomitantemente também haverá um aumento de substâncias pró-inflamatórias na circulação sistémica. Estas substâncias vão provocar uma vasodilatação dos vasos sanguíneos, com conseqüente diminuição da pressão arterial o que, em última instância, irá levar a um choque hipovolémico que secundariamente promove uma diminuição da perfusão sanguínea, aumentando os níveis de lactato sanguíneos, explicando assim a associação entre níveis de PCR e de lactato aumentados, como descreve Silverstein em 2015 e em medicina humana, em estudos realizados por Nguyen e colaboradores em 2010 e por James e co-autores, em 2001.

Quanto à relação entre o lactato e os tempos de coagulação, não foram encontradas relações com o APTT, porém, foi registada uma diferença significativa do valor de PT, sendo que se encontrava bastante diminuído no intervalo correspondente a uma hiperlactatémia grave, embora esta alteração seja referente apenas a um caso, que apresentava um valor de lactatémia superior a 8mmol/L e com um PT de 5,4 segundos. Este doente entrou no HVA após uma hemilaminectomia realizada noutro hospital, tendo acabado por morrer, devido a uma paragem cardiorespiratória. Simultaneamente, o animal apresentava oligúria, o que sugere que se encontrava sujeito a uma lesão renal aguda (pré-renal), provavelmente devido ao baixo débito cardíaco, uma vez que tinha fibrilação arterial, como explica o estudo de medicina humana efetuado por Ingham em 2006 e em medicina veterinária por Lunn em 2011. As alterações hemodinâmicas registadas neste doente, nomeadamente de desidratação e hipoperfusão (Dellinger et al., 2013; Lunn, 2011), levaram ao aumento do nível de lactato neste doente (Silverstein, 2015). Relativamente aos tempos de coagulação, seria espectável encontrar uma alteração em ambos os tempos (APTT e PT), devido às alterações coagulatórias conseqüentes de um trauma cirúrgico, contudo, após medicação pós-cirúrgica para restabelecer a hemodinâmica do doente, apenas o valor APTT se encontrava aumentado, devido a ser o primeiro valor a aumentar no desequilíbrio inflamatório, provocado pela abordagem cirúrgica. Estes dados podem ser relacionados com o estudo desenvolvido por Holowaychuck e colaboradores em 2014, que envolveu cães com coagulopatias após traumas graves e em que determinaram que o APTT é o valor mais sensível para ser utilizado como indicador de prognóstico.

Em relação ao estudo entre a PCR e a SIRS, com as restantes variáveis, foi determinado que a presença concomitante de SIRS e valores de PCR aumentados estão associados à presença de taquicardia e taquipneia. Como já referido anteriormente, a presença de taquicardia e taquipneia, são algumas das alterações necessárias para que

possa ser feito o diagnóstico de SIRS (Silverstein, 2015), contudo, o valor aumentado de PCR revela que esta pode ser utilizada como um biomarcador para a presença de uma resposta inflamatória, embora não seja completamente fiável, uma vez que muitas alterações inflamatórias e infecciosas levam a uma alteração dos valores de PCR (Nakamura et al., 2008). Contudo, em conjunto com os outros parâmetros de avaliação de presença de SIRS, pode ser bastante útil para um diagnóstico precoce e eficaz. Esta afirmação está em concordância com estudos efetuados, em medicina humana, por Reny et al. em 2002, Castelli et al. em 2003, Sierra et al. em 2004, mas também em medicina veterinária, por Gebdhart et al. em 2009.

É de salientar que foram registados 21,4% de casos em que a PCR estava aumentada, contudo, os animais não apresentavam diagnóstico de SIRS e 10,7% de casos em que se registou o diagnóstico de SIRS, mas não se registou aumento de PCR. O diagnóstico clínico da SIRS, assim como de sepsis, é muito vasto e pode ser ambíguo, podendo ser difícil interpretar os sinais clínicos e determinar se ao animal tem ou não SIRS, isto porque, os parâmetros necessários para efetuar corretamente o diagnóstico de SIRS (já referidos anteriormente), podem sofrer alterações rapidamente e um animal que previamente não apresentava critérios de SIRS pode passar a ter, pois estes doentes estão em constante instabilidade hemodinâmica, como é referido no estudo em 2009 de Zimble e Campbell e em medicina humana por Marshall em 2000. (Zimble & Campbell, 2005; Marshall, 2000)

Por último, foi encontrada ainda uma relação, entre valores mais baixos de média de APTT e os casos que apresentam aumento da PCR e ausência de SIRS. Estes dados podem sugerir que, em determinadas situações clínicas, o primeiro biomarcador de SIRS seria a elevação dos níveis de PCR e só depois encontraríamos uma alteração dos tempos de coagulação, o que é justificável, uma vez que os fatores de coagulação apresentam uma diminuição secundária ao aumento de substâncias pré-inflamatórias em circulação, como descreve Esmon em 2005. Contudo, seria necessário aumentar o número total de casos da amostra, para poder afirmar que a PCR é o primeiro biomarcador a sofrer variações, mesmo antes de se registar qualquer alteração a nível dos parâmetros vitais de diagnóstico de SIRS.

Quanto às limitações detetadas neste estudo, como já foi referido, seria necessário aumentar o número de doentes que constituíram a amostra total o que consequentemente aumentaria o número de casos nos diferentes grupos de etiologias aqui apresentados, produzindo dados com uma maior relevância estatística.

Quanto à classificação dos animais em SIRS, os parâmetros vitais poderiam ter sido avaliados todos à mesma hora, de modo a obter um diagnóstico ainda mais fidedigno de SIRS. Contudo é importante referir que em todos os doentes este controlo foi feito no máximo nas 24 horas que procederam à admissão no HVA.

4. Conclusão

Como foi constatado na discussão de resultados, não foi possível encontrar uma linha aritmética nos dados estatísticos, de forma a relacionar os níveis de PCR dos vários doentes deste estudo com o nível de lactato e os tempos de coagulação.

Apesar da ausência de significância estatística entre estes dados analisados, foi, no entanto, possível determinar que a PCR tem as características necessárias para ser utilizada como um biomarcador fiável na identificação precoce da presença de SIRS. Contudo, é necessário, que a sua utilização seja efetuada em conjunto com outros biomarcadores inflamatórios já utilizados regularmente em medicina veterinária, isto devido à complexidade que envolve a patofisiologia da SIRS.

Com a constante modernização das técnicas de deteção de PCR torna-se cada vez mais fácil, em medicina veterinária, poder incluir este biomarcador nos parâmetros para deteção de SIRS, sendo que este estudo, uma vez que foi utilizado um teste automático de deteção de PCR, comprova essa mesma afirmação.

Neste sentido, é possível concluir que este estudo foi relevante para a determinação de biomarcadores precoces de SIRS, tendo sido reafirmada a importância de relacionar etologias com as diferentes alterações destes biomarcadores.

É relevante ainda acrescentar que este estudo deve apresentar uma continuidade futura, de modo a esclarecer os aspetos mais polémicos relacionados com a instabilidade hemodinâmica em doentes com SIRS, sendo necessário o estudo de uma população mais numerosa.

Referências

Agapakis, D., Tsantilas, D., Psarris, P., Massa, E., Kotsaftis, P., Tziomalos, K., *et al.* (2010). Coagulation and inflammation biomarkers may help predict the severity of community-acquired pneumonia. *Respirology*, 15, 796–803.

Agrawal, A., Shrive, A., Greenhough, T., & Volanakis, J. (2001a). Topology and structure of the C1q-binding site on C-reactive protein. *Journal of Immunology*, 166(6), 3998–4004.

Agrawal, A., Cha-Molstad, H., Samols, D., & Kushner, I. (2001b). Transactivation of C-reactive protein by IL-6 requires synergistic interaction of CCAAT/enhancer binding protein beta (C/EBP beta) and Rel p50. *Journal of Immunology*, 166(4), 2378–2384.

Agrawal, A., Simpson, M. J., Black, S., Carey, M. P., & Samols, D. (2002). A C-reactive protein mutant that does not bind to phosphocholine and pneumococcal c-polysaccharide. *The Journal of Immunology*, 169(6), 3217–3222.

Agrawal, A., Samols, D., & Kushner, I. (2003). Transcription factor c-Rel enhances C-reactive protein expression by facilitating the binding of CBP β to the promoter. *Molecular Immunology*, 40(6), 373–380.

Archer, C. (2008). *Relevância da determinação da Proteína C reactiva em cirurgia - estudo preliminar no cão*. Dissertação de Mestrado. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

Bathen-Noethen, A., Carlson, R., Menzel, D., Mischke, R., & Tipold, A. (2008). Concentrations of acute-phase proteins in dogs with steroid responsive meningitis-arteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1149–1156.

Baumann, H., & Gauldie, J. (1994). The acute phase response. *Immunology today*, 15(2), 74–80.

Bharadwaj, D., Stein, M., Volzer, M., Mold, C., & Du Clos, T. (1999). The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is Fc γ receptor II. *The Journal of Experimental Medicine*, 190(4), 585–90.

Black, S. (2005). *C-reactive protein: a study of its functional domains using transgenic mice*. PhD Thesis, Department of Biochemistry, Case Western Reserve University

Bone, R., Balk, R., Cerra, F., Dellinger, R., Fein, A., Knaus, W., *et al.* (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *American College of Chest Physicians*, 101(6), 1644–1655.

Bottazzi, B., Vouret-Craviari, V., Bastone, A., De Gioia, L., Matteucci, C., Peri, G., *et al.* (1997). Multimer formation and ligand recognition by the long pentraxin PTX3. *Journal of Biological Chemistry*, 272(52), 32817–32823.

Brady, C., & Otto, C. (2001). Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31(6), 1147–1162.

Caspi, D., Baltz, M., Snel, F., Gruys, E., Niv, D., Batt, R., *et al.* (1984). Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. *Immunology*, 53(2), 307–313.

Castelli, G., Pognani, C., Meisner, M., Stuani, A., Bellomi, D., & Sgarbi, L. (2004). Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Critical care*, 8(4), 234–242.

Cerón, J., Eckersall, P., & Martínez-Subiela, S. (2005). Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34(2), 85–99.

Cheng, T., Mathews, K., Abrams-Ogg, A., & Wood, R. (2009). Relationship between assays of inflammation and coagulation: A novel interpretation of the canine activated clotting time. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 73(2), 97–102.

Cheng, T., Mathews, K., Abrams-Ogg, A., & Wood, D. (2011). The link between inflammation and coagulation: influence on the interpretation of diagnostic laboratory tests. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, 33(2), 1–12.

Chi, M., Tridandapani, S., Zhong, W., Coggeshall, M., & Mortensen, R. (2002). C-Reactive Protein Induces Signaling Through Fcγ RIIa on HL-60 Granulocytes. *Journal of immunology*, 168, 1413–1418.

Cicarelli, D., Vieira, J., & Benseñor, F. (2007). Lactato como prognóstico de mortalidade e

falência orgânica em pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 57(6), 630–638.

Colombo, P., Ganda, A., Lin, J., Onat, D., Harxhi, A., Iyasere, J., *et al.* (2012). Inflammatory activation: cardiac, renal, and cardio-renal interactions in patients with the cardiorenal syndrome. *Heart Failure Reviews*, 17(2), 177–190.

Cruvinel, W., Júnior, D., Araújo, J., Catelan, T., Souza, A., Silva, N., *et al.* (2010). Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Revista Brasileira Reumatologia*, 50(4), 434–461.

Cunningham, S., Rush, J., & Freeman, L. (2012). Systemic inflammation and endothelial dysfunction in dogs with congestive heart failure. *Journal of Intern Medicine*, 26, 547–557.

Dabrowski, R., Kostro, K., & Szczubia, M. (2013). Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra. *Theriogenology*, 80, 494–497.

De Jong, H., Van Der Poll, T., & Wiersinga, W. (2010). The systemic pro-inflammatory response in sepsis. *Journal of Innate Immunity*, 2(5), 422–430.

Dellinger, R., Levy, M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S., *et al.* (2013). Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Medicine*, 39(2), 165–228.

Doumatey, A., Zhou, J., Adeyemo, A., & Rotimi, C. (2014). High sensitivity C-reactive protein (Hs-CRP) remains highly stable in long-term archived human serum. *Clinical Biochemistry*, 47, 315–318.

Du Clos, T., Zlock, L., Hicks, P., & Mold, C. (1994). Decreased autoantibody levels and enhanced survival of (NZB x NZW) F1 mice treated with C-reactive protein. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 70(1), 22–27.

Du Clos, T. (2000). Function of C-reactive protein. *Annals of Medicine*, 32(4), 274–278.

Du Clos, T. (2003). C-reactive protein as a regulator of autoimmunity and inflammation.

Arthritis and Rheumatism, 48(6), 1475–1477.

Eckersall, P., & Conner, J. (1988). Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary Research Communications*, 12, 169–178.

Eckersall, P., Conner, J., & Harvie, J. (1991). An enzyme-linked immunosorbent assay for canine C-reactive protein. *Veterinary Research Communications*, 15, 17–24.

Eckersall, P. (1995). Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comparative Haematology International*, 5(2), 93–97.

Eckersall, P., & Bell, R. (2010). Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, 185(1), 23–27.

Esmon, C. (2005). The interactions between inflammation and coagulation. *British Journal of Haematology*, 131(4), 417–430.

Fearon, D., & Locksley, R. (1996). The instructive role of Innate Immunity in the acquired immune response. *Science*, 272(4), 50–54.

Fransson, B., Karlstam, E., Bergstrom, A., Lagerstedt, A., Park, J., Evans, M., *et al.* (2004). C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia / mucometra in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(9–10), 391–399.

Fransson, B., Lagerstedt, A., Bergstrom, A., Hagman, R., Park, J., Chew, B., *et al.* (2007). C-reactive protein, tumor necrosis factor alfa, and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 17(4), 373–381.

Fransson B., Ovaries and Uterus (2012) in Tobias K., Johnston S., *Veterinary Surgery: Small Animal – vol.1*, (pp.1871-1891) Canada, Saunders.

Gaboriaud, C., Juanhuix, J., Gruez, A., Lacroix, M., Darnault, C., Pignol, D., *et al.* (2003). The Crystal Structure of the Globular Head of Complement Protein C1q Provides a Basis for Its Versatile Recognition Properties. *Journal of Biological Chemistry*, 278(47), 46974–46982.

Garvican E., German A., Innes J., Biomarkers in clinical medicine (2012) in Tobias K., Johnston S., *Veterinary Surgery: Small Animal – vol.1*, (pp.29-40) Canada, Saunders.

Gebhardt, C., Hirschberger, J., Rau, S., Arndt, G., Krainer, K., Schweigert, F., *et al.* (2009). Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 19(5), 450–458.

German, A., Hervera, M., Hunter, L., Holden, S., Morris, P., Biourge, V., *et al.* (2009). Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology*, 37(4), 214–226.

Gotschlich, E., & Stetson, C. (1960). Immunologic cross-reactions among mammalian acute phase proteins, (8), 441–451.

Grauer, G. (2016). Overview of ethylene glycol toxicity. Acedido em 22 de Fevereiro de 2017 em <http://www.msdsmanual.com/toxicology/ethylene-glycol-toxicity/overview-of-ethylene-glycol-toxicity>

Gruys, E., Toussaint, M., Niewold, T., & Koopmans, S. (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University. Science*, 6(11), 1045–1056.

Gruys, E., Toussaint, M., Niewold, T., Koopmans, S., van Dijk, E., & Meloen, R. (2006). Monitoring health by values of acute phase proteins. *Acta Histochemica*, 108(3), 229–232.

Guo, R., & Ward, P. (2005). Role of C5a in inflammatory responses. *Annual Review of Immunology*, 23(1), 821–852.

Gutiérrez, A., Martínez-Subiela, S., Eckersall, P., & Cerón, J. (2009). C-reactive protein quantification in porcine saliva: A minimally invasive test for pig health monitoring. *The Veterinary Journal*, 181(3), 261–265.

Hauptman, J., Walshaw, R., & Olivier, N. (1997). Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Veterinary surgery*, 26(5), 393–397.

Hayashi, S., Jinbo, T., Iguchi, K., Shimizu, M., Shimada, T., & Nomura, M. (2001). A comparison of the concentrations of C-reactive protein and α_1 -acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation. *Veterinary Research Communications*,

25(2), 117–126.

Heegaard, P., Stockmarr, A., Pineiro, M., Carpintero, R., Lampreave, F., Campbell, F., *et al.* (2011). Optimal combinations of acute phase proteins for detecting infectious disease in pigs. *Veterinary Research*, 42(1), 1–13.

Heinrich, P., Castellt, J., & Andus, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *The Biochemical Journal*, 265, 621–636.

Heinrich, P., Behrmann, I., Muler-Newen, G., Schaper, F., & Graeve, L. (1998). Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Ja/STAT pathway. *Biochemical Journal*, 334, 297–314.

Hillström, A., Hagman, R., Söder, J., Häggström, J., Ljungvall, I., & Kjelgaard-Hansen, M. (2015). Validation and application of a canine-specific automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 27(2), 182–190.

Hofer, N., Zacharias, E., Müller, W., & Resch, B. (2012). An update on the use of C-reactive protein in early-Onset neonatal sepsis: Current insights and new tasks. *Neonatology*, 102(1), 25–36.

Holowaychuk, M., Hanel, R., Wood, R., Rogers, L., O’Keefe, K., & Monteith, G. (2014). Prospective multicenter evaluation of coagulation abnormalities in dogs following severe acute trauma. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 24(1), 93–104.

Hundt, M., Zielinska-Skowronek, M., & Schmidt, R. E. (2001). Lack of specific receptors for C-reactive protein on white blood cells. *European journal of immunology*, 31(12), 3475–83.

Hutchinson, W., Koenig, W., Frohlich, M., Sund, M., Lowe, G., & Pepys, M. (2000). Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: age-related values in the adult general population. *Clinical Chemistry*, 46(7), 934–938.

Ibraimi, F., Kriz, K., Merin, H., & Kriz, D. (2009). Magnetic permeability based diagnostic test for the determination of the canine C-reactive protein concentration in undiluted whole blood. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10), 1632–1634.

Ingham, J. (2006). Acute renal failure in intensive care. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 7(4), 116–118.

Iturry-Yamamoto, G., & Portinho, C. (2001). Sistema complemento: ativação, regulação e deficiências congênitas e adquiridas. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 47(1), 41–51.

James, J., Luchette, F., Mccarter, F., & Fischer, J. (2001). Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Critical Care Medicine*, 27(7), 505–508.

Jergens, A., Schreiner, C., Frank, D., Niyo, Y., Ahrens, F., Eckersall, P., *et al.* (2003). A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(3), 291–297.

Kent, J. (1992). Acute phase proteins: Their use in veterinary diagnosis. *British Veterinary Journal*, 148(4), 279–282.

Kirby R. (2017) An introduction to SIRS and the Rule of 20, In Kirby R., Linklater A. (Ed.), *Monitoring and Intervention for the Critically Ill Small Animal: The Rule of 20*, (pp. Puducherry, India: Wiley-Blackwell

Kjelgaard-Hansen, M., Jensen, A., & Kristensen, A. (2003a). Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(2), 81–87.

Kjelgaard-Hansen, M., Mikkelsen, L., Kristensen, A., & Jensen, A. (2003b). Study on biological variability of five acute-phase reactants in dogs. *Comparative Clinical Pathology*, 12(2), 69–74.

Kjelgaard-hansen, M. (2004). *Canine C-reactive protein - a study on the applicability of canine serum C-reactive protein*. Ph.D. Thesis, *Veterinary Clinical Pathology, The Royal Veterinary and Agricultural University*, 1-125

Kjelgaard-Hansen, M., Jensen, A., Houser, G., Jessen, L., & Kristensen, A. (2006). Use of serum C-reactive protein as an early marker of inflammatory activity in canine type II immune-mediated polyarthritis: case report. *Acta veterinaria Scandinavica*, 48(9), 1–4.

Kobayashi, S., Gando, S., Morimoto, Y., Nanzaki, S., & Kemmotsu, O. (2001). Serial measurement of arterial lactate concentrations as a prognostic indicator in relation to the incidence of disseminated intravascular coagulation in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Surgery Today*, 31(10), 853–9.

Koj, A., & Aleksander, K. (1996). Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1317, 84–94.

Kuribayashi, T., Shimada, T., Matsumoto, M., Kawato, K., Honjyo, T., Fukuyama, M., et al. (2003). Determination of serum C-reactive protein (CRP) in healthy beagle dogs of various ages and pregnant beagle dogs. *Experimental animals*, 52(5), 387–390.

Kushner, I. (1982). The phenomenon of the acute phase response. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 389, 39–48.

Kuta, A., & Baum, L. (1986). C-Reactive Protein is Produced by a small number of normal human peripheral blood lymphocytes. *The Rockefeller University Press*, 164(4), 321–326.

Legouffe, E., Rodriguez, C., Picot, M., Richard, B., Klein, B., Rossi, J., et al. (1998). C-reactive protein serum level is a valuable and simple prognostic marker in non Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*, 31, 351–357.

Levi, M., Van Der Poll, T., & Büller, H. (2004). Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Journal of the American Heart Association*, 109(22), 2698–2704.

Levi, M., & Van Der Poll, T. (2005). Two-way interactions between inflammation and coagulation. *TCM*, 15(7), 254–259.

Levy, M., Fink, M., Marshall, J., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., ... Ramsay, G. (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Medicine*, 29, 530–538.

Lobetti, R., Möhr, A., Dippenaar, T., & Myburgh, E. (2000). A preliminary study on the serum protein response in canine babesiosis. *J. S. Afr. Vet Association*, 71(1), 38–42.

Lunn, K. (2011). The Kidney in Critically Ill Small Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 41(4), 727–744.

Marnell, L., Mold, C., & Du Clos, T. (2005). C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. *Clinical Immunology*, 117(2), 104–111.

Marshall, J. (2000). SIRS and MODS: Whats is their relevance to the Science and Practice of Intensive Care? *Shock*, 14(6), 586–589.

Martí-Carvajal, A., Salanti, G. & Cardona-Zorrilha, A. (2009). Human recombinant activated protein C for severe sepsis. *The Cochrane database of systematic reviews*, 1(1) 1–77.

Martínez-Subiela, S., Tecles, F., Eckersall, P., & Cerón, J. (2002). Serum concentrations of acute - phase proteins in dogs with leishmaniosis during short - term treatment . *The Veterinary Record*, 150(2), 241–244.

Martínez-Subiela, S., Ginel, P., & Cerón, J. . (2004). Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *The Veterinary Record*, 154(26), 814–817.

Martínez-Subiela, S., & Cerón, J. (2005). Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniosis at diagnosis, during and after short-term treatment. *Veterinary Medicine - Czech*, 50(1), 39–46.

Martinez-Subiela, S., Strauss-Ayali, D., Cerón, J., & Baneth, G. (2011). Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 180(3), 197–202.

Medzhitov, R., & Janeway Jr., C. (2000). Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunological Reviews*, 173, 89–97.

Méndez, J., Carretón, E., Martínez, S., Tvarijonaviciute, A., Cerón, J., & Montoya-Alonso, J. (2014). Acute phase response in dogs with *Dirofilaria immitis*. *Veterinary Parasitology*, 204(3–4), 420–425.

Merlo, A., Cristina, B., Rezende, G., Franchini, M., Maria, D., Simões, N., *et al.* (2007). Serum C-reactive protein concentrations in dogs with multicentric lymphoma undergoing chemotherapy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(4), 522–526.

Miert, V. (1995). Pro-inflammatory cytokines in a ruminant model: pathophysiological, pharmacological, and therapeutic aspects. *The Veterinary quarterly*, 17(2), 41–50.

Mikkelsen, M., Miltiades, A., Gaieski, D., Goyal, M., Fuchs, B., Shah, C., ... Christie, J. (2009). Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Critical Care Medicine*, 37(5), 1670–1677.

Milne, E., Doxey, D., & Kent, J. (1991). Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia). *Research in Veterinary Science*, 50(3), 273–278.

Mischke, R., Waterston, M., & Eckersall, P. (2007). Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. *The Veterinary Journal*, 174(1), 188–192.

Mitaka, C. (2005). Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 351(1–2), 17–29.

Mitchell, K., Kruth, S., Wood, R., & Jefferson, B. (2009). Serum Acute Phase Protein in Concentrations in Dogs with Autoimmune Hemolytic Anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 585–591.

Mold, C., Gurulé, C., Otero, D., & Du Clos, T. (1996). Complement-dependent binding of C-reactive protein complexes to human erythrocyte CR1. *Clinical immunology and immunopathology*, 81(2), 153–160.

Mold, C., Gewurz, H., & Du Clos, T. (1999). Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology*, 42(1–3), 23–30.

Murata, H., Shimada, N., & Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Veterinary Journal*, 168(1), 28–40.

Nakamura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A., *et al.* (2008). C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *The Journal of veterinary medical science*, 70(2), 127–131.

Ndung'u, J., Eckersall, P., & Jennings, F. (1991). Elevation of the concentration of acute phase

proteins in dogs infected with *Trypanosoma brucei*. *Acta Tropica*, 49(2), 77–85.

Neumann, N. (2015). Shock and Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in the cat and dog. Acedido em 12 de Janeiro em <http://www.ovempet.ie/wp-content/uploads/2012/02/Shock-and-SIRS.pdf>

Nemzek J., Cotroneo, Hampton A., Inflammatory Response (2012) in Tobias K., Johnston S., *Veterinary Surgery: Small Animal – vol.1*, (pp.1-15) Canada, Saunders.

Nguyen, H., Loomba, M., Yang, J., Jacobsen, G., Shah, K., Otero, R., *et al.* (2010). Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *Journal of inflammation*, 7(6), 1–11.

Ohno, K., Yokoyama, Y., Nakashima, K., Setoguchi, A., Fujino, Y., & Tsujimoto, H. (2006). C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 68(12), 1275–1279.

Otabe, K., Sugimoto, T., Jinbo, T., Honda, M., Kitao, S., Hayashi, S., *et al.* (1998). Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. *Veterinary Research Communications*, 22(2), 77–85.

Otabe, K., Ito, T., Sugimoto, T., & Yamamoto, S. (2000). C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Laboratory*

Otto, C. (2007). Sepsis in veterinary patients: What do we know and where can we go? *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 17(4), 329–332.

Paltrinieri, S. (2007). Early biomarkers of inflammation in dogs and cats: The acute phase proteins. *Veterinary Research Communications*, 31(1), 125–129.

Parra, M., Tecles, F., Martinez-Subiela, S., & Ceron, J. (2005a). C-reactive protein measurement in canine saliva. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(2), 139–144.

Parra, M., Tuomola, M., Cabezas-herrera, J., & Cerón, J. (2005b). Use of a time-resolved

immunofluorometric assay for determination of canine C-reactive protein concentrations in whole blood. *American Journal of Veterinary Research*, 66(1), 62–66.

Parra, M., Tuomola, M., Cabezas-Herrera, J., & Ceron, J. (2006). Analytical and clinical validation of a time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) for canine c- reactive protein in serum. *Veterinary research communications*, 30, 113–126.

Paul, C., Hansson, L., Seierstad, S. ., & Kriz, K. (2011). Canine C-reactive protein - a clinical guide.

Pepys, M., & Baltz, M. (1983). Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid a protein. *Advances in immunology*, 34, 141–211.

Petaja, J. (2011). Inflammation and coagulation: An overview. *Trombosis Research*, 127(2), 34–37.

Petersen, H., Nielsen, J., & Heegaard, P. (2003). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *The Veterinary Research*, 35(3), 239–250.

Plickert, H., Einspanier, R., Arndt, G., Brunberg, L., & Kohn, B. (2011). Evaluation of a point-of-care test for canine C-reactive protein. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(3) *et al.* (1998). C-reactive protein (CRP) as an indicator of sepsis. *Intensive Care Medicine*, 24 , 1052–1056.

Rau, S., Kohn, B., Richter, C., Fenske, N., Küchenhoff, H., Hartmann, K., *et al.* (2007). Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(3), 253–260.

Reimann, M., Ljungvall, I., Hillström, A., Møller, J., Hagman, R., Falk, T., *et al.* (2015). Increased serum C-reactive protein concentrations in dogs with congestive heart failure due to myxomatous mitral valve disease. *The Veterinary Journal*, 209, 1–22.

Reny, J., Vuagnat, A., Ract, C., Benoit, M., Safar, M., & Fagon, J. (2002). Diagnosis and follow-up of infections in intensive care patients: Value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables. *Critical Care Medicine*, 30(3), 529–535.

Revelly, J., Tappy, L., Martinez, A., Bollmann, M., Cayeux, M., Berger, M., *et al.* (2005). Lactate and glucose metabolism in severe sepsis and cardiogenic shock. *Critical care medicine*, 33(10), 2235–2240.

Ridker, P., Rifai, N., Pfeffer, M., Sacks, F., & Braunwald, E. (1999). Long-term effects of pravastatin on plasma concentrations of C-reactive protein. *Circulation*, 100, 230–235.

Rikihisa, Y., Yamamoto, S., Kwak, I., Zafar, I., Kociba, G., Mott, J., & Chichanasiriwithya, W. (1994). C-reactive protein and α 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4), 912–917.

Ripanti, D., Dino, G., Piovano, G., & Farca, A. (2012). Application of the sequential organ failure assessment score to predict outcome in critically ill dogs: preliminary results. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 154(8), 325–330.

Rivers, E., Kruse, J., Jacobsen, G., Shah, K., Loomba, M., Otero, R., *et al.* (2007). The influence of early hemodynamic optimization on biomarker patterns of severe sepsis and septic shock. *Critical care medicine*, 35(9), 2016–2024.

Robertson, C., & Coopersmith, C. (2006). The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes and Infection*, 8(5), 1382–1389.

Romero, I., Morris, C., Rodriguez, M., Du Clos, T., & Mold, C. (1998). Inflammatory potential of C-reactive protein complexes compared to immune complexes. *Clinical immunology and immunopathology*, 87(2), 155–162.

Rubio, C., Schmidt, E., Santos, G., Lima, A., Rodrigues, T., Dálío, R., *et al.* (2014). Acute phase response following ovariohysterectomy in female dogs. *Comparative Clinical Pathology*, 24(4), 1984–1989.

Rush, J. E., Lee, N. D., Freeman, L. M., & Brewer, B. (2006). C-reactive protein concentration in dogs with chronic valvular disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 635–639.

Salmon, J., & Pricop, L. (2001). Human receptors for immunoglobulin g - key elements in the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis & Rheumatism*, 44(4), 739–750.

Sarikaputi, M., Morimatsu, M., Syuto, B., Saito, M., & Naiki, M. (1991). A new purification procedure for bovine C-reactive protein and serum amyloid P component. *The International journal of biochemistry*, 23(10), 1137–1142.

Schatzberg S. & Nghiem P., Medical conditions of the Nervous System, in Tobias K., Johnston S., *Veterinary Surgery: Small Animal – vol.1*, (pp.388-410) Canada, Saunders.

Sheahan, D., Bell, R., Mellanby, R., Gow, A., Friend, E., Heller, J., *et al.* (2010). Acute phase protein concentrations in dogs with nasal disease. *The Veterinary Record*, 167(23), 895–899.

Shrive, A., Cheetham, G., Holden, D., Myles, D., Turnell, W., Volanakis, J., *et al.* (1996). Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nature Bstructural biology*, 3(4), 346–354.

Siegel, J., Rent, R., & Gewurz, H. (1974). Interaction of C-reactive protein with the complement system. *The Journal of Experimental Medicine*, 140(4), 631–647.

Sierra, R., Rello, J., Bailén, M., Benítez, E., Gordillo, A., León, C., *et al.* (2004). C-reactive protein used as an early indicator of infection in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Medicine*, 30(9), 2038–2045.

Silverstein, D. (2015). Systemic inflammatory response syndrome & sepsis. *Today's Veterinary Practice*, 38–44.

Singer, M., Deutschman, C., Seymour, C., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., *et al.* (2016). The Third International Consensus Definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *Clinical Review and Education*, 315(8), 801–10.

Stein, M., Mold, C., & Du Clos, T. (2000). C-reactive protein binding to murine leukocytes requires Fc receptors. *The Journal of Immunology*, 164(3), 1514–1520.

Szalai, A., Briles, D., & Volanakis, J. (1996). Role of complement in C-reactive-protein-mediated protection of mice from *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology*, 64(11), 4850–4853.

Szalai, A., Agrawal, A., Greenhough, T., & Volanakis, J. (1999). C-reactive protein: structural biology and host defense function. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37(3), 265–

270.

Tappin, S. (2016). Canine tracheal collapse. *Journal of Small Animal Practice*, 57(1), 9–17.

Tecles, F., Spiranelli, E., Bonfanti, U., Cerón, J., & Paltrinieri, S. (2005). Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. *Journal of veterinary internal medicine*, 19(6), 865–870.

Tecles, F., Caldin, M., Zanella, A., Membiela, F., Tvarijonavičiute, A., Martinez-Subiela, S., et al. (2009). Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(2), 214–219.

Thomas-Rudolph, D., Du Clos, T., Snapper, C., & Mold, C. (2007). C-reactive protein enhances immunity to streptococcus pneumoniae by targeting uptake to FcγR on dendritic cells. *The Journal of Immunology*, 178(11), 7283–7291.

Thompson, D., Pepys, M., & Wood, S. (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*, 7(2), 169–177.

Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2014). Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants : a review. *Veterinarni Medicina*, 59(4), 163–180.

Trayhurn, P. (2005). Adipose Tissue in Obesity — An Inflammatory Issue. *Endocrinology*, 146(3), 1003–1005.

Ulutas, B., Bayramli, G., Ulutas, P., & Karagenc, T. (2005). Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study. *Veterinary clinical pathology*, 34(2), 144–147.

Van Reeth, K., Nauwynck, H., & Pensaert, M. (1998). Bronchoalveolar interferon-alpha, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1, and inflammation during acute influenza in pigs: a possible model for humans? *The Journal of infectious diseases*, 177(4), 1076–1079.

Van Rossum, A., Fazzini, F., Limburg, P., Manfredi, A., Rovere-Querini, P., Mantovani, A., et al. (2004). The prototypic tissue pentraxin PTX3, in contrast to the short pentraxin serum

amyloid P, inhibits phagocytosis of late apoptotic neutrophils by macrophages. *Arthritis and Rheumatism*, 50(8), 2667–2674.

Viitanen, S., Laurila, H., Lilja-Maula, L., Melamies, M., Rantala, M., & Rajamäki, M. (2014). Serum C-reactive protein as a diagnostic biomarker in dogs with bacterial respiratory diseases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(1), 84–91.

Villar, J., Slutsky, A., Hew, E., & Aberman, A. (1990). Oxygen transport and oxygen consumption in critically ill patients. *Chest*, 98(3), 687–692.

Volanakis, J., & Kaplan, M. (1970). Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal c-polysaccharide. *Journal of Biological Chemistry*, 136, 612–614.

Volanakis, J. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure and function. *Molecular Immunology*, 38, 189–197.

Walport, M. (2001). Complement. *The New England Journal of Medicine*, 344(14), 1703–1714.

Wang, X., & Andersson, R. (1994). Intestinal Brush Border Membrane Function. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(4), 289–299.

Ward, P. (2012). New approaches to the study of sepsis. *EMBO Molecular Medicine*, 4(12), 1234–1243.

Watanabe, A., Morimatsu, M., Yoshimatsu, K., Yamamoto, S., Terao, A., Tsukazaki, K., *et al.* (1992). Isolation of C-reactive protein from cat serum. *Journal of Small Animal Practice*, 33(2), 71–77.

Weisberg, S., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R., & Ferrante, A. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796–1808.

Weiser, J., Pan, N., McGowan, K., Musher, D., Martin, A., & Jim, R. (1998). Phosphorylcholine on the lipopolysaccharide of *Haemophilus influenzae* contributes to persistence in the respiratory tract and sensitivity to serum killing mediated by c-reactive protein. *Journal of Experimental Medicine*, 187(4), 631–640.

Yamamoto, S., Tagata, K., Nagahata, H., Ishikawa, Y., Morimatsu, M., & Naiki, M. (1992). Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30(4), 329–339.

Yamamoto, S., Shida, T., Santsuka, H., Fujise, H., & Furukawa, E. (1993a). Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Veterinary Research Communications*, 17(2), 85–93.

Yamamoto, S., Abe, N., Santsuka, H., Shida, T., Kishida, K., Kuwajima, S., et al. (1993b). Efficient preparation of monospecific anti-canine C-reactive protein serum and purification of canine C-reactive protein by affinity chromatography. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36(3), 293–301.

Yamamoto, S., Shida, T., Okimura, T., Otabe, K., Honda, M., Ashida, Y., et al. (1994a). Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test. *The Veterinary quarterly*, 16(2), 74–77.

Yamamoto, S., Shida, T., Honda, M., Ashida, Y., Rikihisa, Y., Odakura, M., et al. (1994b). Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with *Bordetella bronchiseptica* (phase I cells). *Veterinary Research Communications*, 18(5), 347–357.

Yudkin, J., Stehouwer, C., Emeis, J., & Coppack, S. (1999). C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction : a potential role for cytokines originating from adipose tissue?. *Journal of the American Heart Association*, 19(9), 972–978.

Zimble, N., & Campbell, A. (2005). Sepsis, SIRS and MODS. *Organ Failure*, 32–35.