

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Disciplina: SEMINÁRIOS APLICADOS

## **PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CÃES**

Letícia Furtado Rodrigues  
Orientadora: Maria Clorinda Soares Fioravanti

GOIÂNIA  
2011

LETÍCIA FURTADO RODRIGUES

## **PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CÃES**

Seminário apresentado junto à disciplina de Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Nível: Mestrado

### **Área de concentração:**

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

### **Linha de Pesquisa:**

Alterações clínicas, metabólicas e toxêmicas dos animais e meios auxiliares de diagnóstico

### **Orientadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Clorinda Soares Fioravanti – UFG

### **Comitê de Orientação:**

Dr<sup>a</sup>. Severiana Cândida Mendonça Cunha Carneiro – UFG

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Cristina de Oliveira – FESURV

GOIÂNIA

2011

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Classificação das PFAs.....	4
2.1.2 Classificação baseada na concentração plasmática.....	4
2.1.3 Classificação baseada no modo de ação.....	5
2.1.4 Classificação baseada no mecanismo de síntese.....	5
2.2 Principais PFAs encontradas nos cães.....	6
2.2.1 Albumina.....	6
2.2.2 Pré-albumina ou transtiretina (TTR).....	7
2.2.3 Transferrina.....	8
2.2.4 Ferritina.....	9
2.2.5 Proteína C reativa (PCR).....	10
2.2.6 Fibrinogênio.....	11
2.2.7 Haptoglobina (Hp).....	12
2.2.8 Alfa-1 glicoproteína ácida (AGP).....	13
2.2.9 Amilóide A sérica (SAA).....	14
2.2.10 Ceruloplasmina (CP).....	15
2.3 Índice de avaliação das proteínas de fase aguda.....	16
2.4 Principais técnicas de mensuração das PFAs.....	17
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
REFERÊNCIAS.....	20

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1	Esquema de produção de PFAs.....	5
FIGURA 2	Representação esquemática de eletroforese em gel de agarose e fracionamento eletroforético.....	17

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AGP	alfa-1 glicoproteína ácida
API	índice de fase aguda
CP	ceruloplasmina
Hp	haptoglobina
IL-1	interleucina-1
IL-6	interleucina-6
IL-8	interleucina-8
IPIN	índice inflamatório e nutricional
PCR	proteína C reativa
PFA	proteína de fase aguda
PFA <sub>s</sub>	proteínas de fase aguda
PINI	índice nutricional e de fase aguda
TTR	transtiretina
SAA	amilóide A sérica
SDS-PAGE	poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio
TNF- $\alpha$	fator de necrose de tumoral

## 1 INTRODUÇÃO

Os animais possuem o sistema imunológico interligado aos demais sistemas existentes e há um envolvimento de mediadores protéicos na modulação de resposta imune. Estes mediadores vêm sendo pesquisados e gradativamente desvendados, de modo que a sua manipulação experimental tem viabilizado grandes descobertas que estão possibilitando diagnósticos mais precoces e precisos na rotina clínica.

A maior parte dos mediadores de resposta imune é constituída por proteína. Mulder, em 1839, foi o criador do termo “proteína”; palavra originária do grego *proteios*, que significa “primário”, “essencial”. As proteínas são formadas por compostos orgânicos de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre, e constituem o principal componente dos organismos vivos (TORRES, 2008; AURÉLIO, 2011).

Após a injúria tecidual o organismo responde de forma imediata, produzindo agentes de resposta de fase aguda; entre eles se destacam as proteínas de fase aguda (PFAs), indispensáveis para o restabelecimento da homeostasia corporal (CERÓN et al., 2005).

Após o estímulo gerado pelas citocinas, principalmente a interleucina-1, interleucina-6 e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), liberadas por células de defesa, o fígado sintetiza e libera a maioria das PFAs, o que resulta no seu aumento na corrente sanguínea (PETERSEN et al., 2004).

Em cães a mensuração das PFAs tem sido utilizada com mais frequência, uma vez que possibilita ao clínico estabelecer diagnóstico precoce, em relação aos outros testes laboratoriais utilizados na rotina clínica de pequenos animais, influenciando o procedimento terapêutico e conseqüentemente o estabelecimento de prognósticos mais precisos, evitando assim, a piora do paciente e até possível óbito. Infelizmente, ainda há uma grande lacuna em relação ao conhecimento do mecanismo de ação de cada tipo destas proteínas, bem como sua aplicação na prática clínica. Portanto, o objetivo deste seminário foi realizar uma revisão sobre a aplicabilidade das principais proteínas de fase aguda na clínica de cães.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A monitoração da resposta inflamatória ainda é um desafio clínico, pois os sinais da inflamação nem sempre se manifestam clinicamente. Assim a utilização dos testes hematológicos e da bioquímica sanguínea, principalmente a mensuração de PFAs, pode ser necessária para diagnosticar doenças inflamatórias indiscerníveis (NOGUEIRA, 2010).

As PFAs são um grupo de proteínas do sangue que contribuem para o restabelecimento da homeostase, limitando o crescimento bacteriano de forma independente dos anticorpos, que aparecem logo após a instalação de processos inflamatórios, infecção, trauma cirúrgico, estresse e neoplasias (MURATA et al., 2004).

As lesões teciduais ativam o sistema complemento, opsoninas e agregação plaquetária que geram uma resposta local imediata e inespecífica; como a atuação dos linfócitos TH2, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais que liberam as IL-1, IL-6 e IL-8 e TNF- $\alpha$  que estimulam o sistema imunológico, o cérebro (eixo hipotálamo-hipófise-adrenal) e os hepatócitos, os quais passam a sintetizar e liberar as PFAs que seguem para o local da injúria tecidual. Com a estimulação do hipotálamo ocorrem reações sistêmicas como redução de secreção do hormônio do crescimento e várias outras mudanças fisiológicas como febre, anorexia e catabolismo das células. Assim as PFAs em conjunto com as demais alterações irão mediar à inflamação (PERTESEN et al., 2004; GRUYS et al., 2005; JAIN et al., 2011).

A resposta de fase aguda (RFA) é muito rápida e antecede ao estímulo do sistema imune e, em muitos casos, o surgimento dos sinais clínicos (CERÓN et al., 2005). O aumento das PFAs ocorre precocemente quando comparado com a leucocitose, aumento da taxa de hemossedimentação e febre (JAIN, 1993). Entretanto, é considerada uma resposta extremamente inespecífica, pois desenvolve secundariamente várias condições que produzem lesão tecidual (CERÓN et al., 2005).

Esta é uma reação muito complexa que envolve efeitos locais e sistêmicos. Um desses efeitos é alteração na concentração de algumas proteínas

plasmáticas, as PFAs, sintetizadas principalmente pelos hepatócitos. Sua indução é desencadeada pelas citocinas, que atuam como mensageiras entre o local da lesão e a estimulação dos hepatócitos para a sua produção. As citocinas têm múltiplas origens, vários alvos e desempenham diversas funções e sua presença já foi confirmada em diversas espécies de animais (JAIN et al., 2011).

O sistema imunológico reage logo após o dano tecidual, com o propósito de desencadear homeostasia e a ativação do sistema complemento. O estímulo para a produção das PFAs ocorre entre seis a oito horas após a agressão, mas a persistência de concentrações elevadas depende da gravidade do processo desencadeador e da resposta do organismo (JAIN, 1989; CERÓN et al., 2005; KANEKO, 2008). Sua concentração máxima normalmente é atingida entre 24 a 48 horas após a estimulação e o declínio ocorre com a resolução do processo desencadeador ou com o *feedback* negativo (JAIN et al., 2011).

Citocinas pró-inflamatórias advindas da resposta de fase aguda sofrem um efeito inibitório devido a uma retroalimentação negativa (*feedback* negativo) das PFAs. Se o processo se torna crônico a ação da IL-1 inibe a produção das PFAs ou estas continuam sendo produzidas em quantidades menores em relação em processos agudos (ECKERSALL et al., 2006; JAIN et al., 2011).

Nas últimas décadas muitos avanços foram alcançados em relação às PFAs, envolvendo o monitoramento de animais de companhia ou animais para fins experimentais. A quantificação das suas concentrações no sangue é importante no estabelecimento do diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do tratamento nestas espécies (MURATA et al., 2004).

O uso das PAFs pode ser considerado uma das ferramentas laboratoriais mais interessantes e promissoras para o clínico veterinário. Embora fisiopatologia dos processos envolvendo estas proteínas já seja conhecida, ainda há desafios a serem vencidos, como a padronização de técnicas laboratoriais e desenvolvimento de testes automatizados mais acessíveis financeiramente, tornando possível aplicá-las rotineiramente como biomarcadores de infecção, lesões inflamatórias, traumas, neoplasias, além de prospecção de novas utilizações (CERÓN et al., 2005; CRAY et al, 2009; ECKERSALL & BELL, 2010).

## 2.1 Classificação das PFAs

Segundo JAIN et al. (2011) as proteínas de fase aguda podem ser classificadas de acordo com sua concentração plasmática, quanto ao seu modo de ação e também de acordo com o mecanismo de síntese.

### 2.1.2 Classificação baseada na concentração plasmática

#### a) Proteínas de fase aguda negativas

Na inflamação o fígado responde produzindo um grande número de PFAs. Ao mesmo tempo, a produção de uma série de outras proteínas é reduzida. Estas são conhecidas como PFAs "negativas". Nesta categoria se enquadram a albumina, a transferrina, a transtiretina, a transcortina e a proteína de ligação do retinol (JAIN et al., 2011).

#### b) Proteínas de fase aguda positivas

São consideradas PFAs positivas, ou seja, as que apresentam elevação da concentração sérica na inflamação, a proteína C reativa (PCR), o dímero-D, a proteína ligadora de manose, a alfa-1 antitripsina, a alfa-1 antiqumiotripsina, a alfa-2 macroglobulina, o fibrinogênio, a protrombina, o fator VIII, o fator de Von Willebrand, o plasminogênio, os fatores do complemento, a ferritina, a amilóide A sérica (SAA), a ceruloplasmina (CP), a haptoglobina (Hp) e a alfa-1 glicoproteína ácida (GPA) (CERÓN et al., 2005; KANECO et al., 2008, JAIN et al., 2011).

As PFAs positivas desempenham diversas funções fisiológicas para o sistema imunológico, como destruição ou inibição do crescimento de microorganismos, atuação nos estados de inflamação sistêmica associada à anorexia e alterações metabólicas. Outras são responsáveis pelo *feedback* negativo sobre a resposta inflamatória (JAIN et al., 2011).

### 2.1.3 Classificação baseada no modo de ação

Considerando o modo de ação das PFAs, pode ser instituída a seguinte divisão (JAIN et al., 2011):

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

### 2.1.4 Classificação baseada no mecanismo de síntese

Segundo JAIN et al. (2011) as PFAs são produzidas devido a RFA, que estimula a produção hepática pelos hepatócitos e também ocorre a estimulação extra-hepática que a produção ocorre pelas células epiteliais, células endoteliais e tecido conectivo (Figura 1).

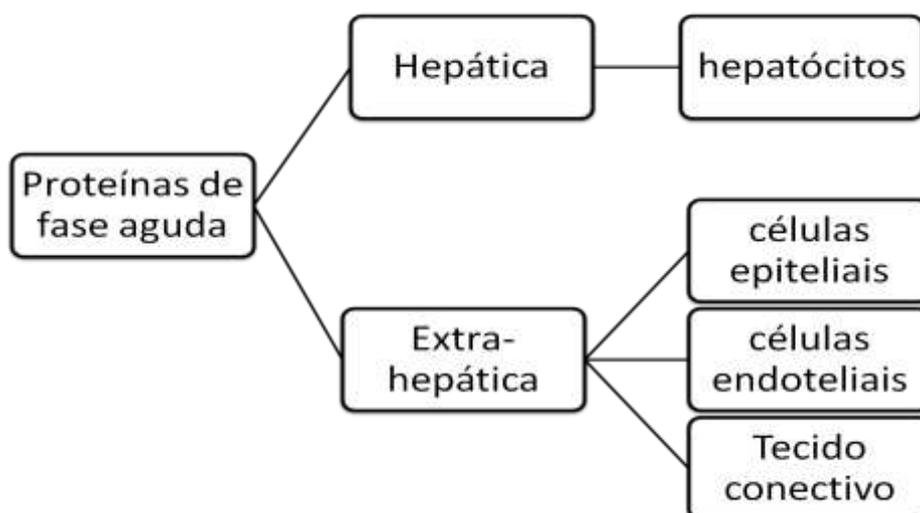


FIGURA 1 – Esquema de produção de PFAs  
Fonte: Adaptado de JAIN et al. (2011)

## 2.2 Principais PFAs encontradas nos cães

As principais PFAs descritas em cães, com suas peculiares características e funções, são a albumina, pré-albumina ou transtiretina (TTR), transferrina, proteína C reativa (PCR), fibrinogênio, ferritina, haptoglobina (Hp),  $\alpha$ -1 glicoproteína ácida (AGP), amiloide A sérica (SAA) e ceruloplasmina (CP).

### 2.2.1 Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, constituindo importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina, além de participar da regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion. O seu aumento ocorre exclusivamente em situações de desidratação. A hipoalbuminemia pode ocorrer em várias situações advindas de dano hepático crônico, deficiência alimentar de fontes protéicas, parasitismos, doença renal (síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica, diabetes), síndrome da má absorção intestinal, hemorragias, enteropatia com perda de proteína e queimaduras graves. Ainda, tal situação decorre do catabolismo aumentado da albumina como consequência de deficiência energética, que estimula a mobilização de reservas de aminoácidos para entrarem na via da gliconeogênese (TRALL, 2007).

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

Em pacientes humanos com choque séptico, a saída da albumina para o espaço extravascular pode ter um aumento da ordem de 300%, sendo que, em pacientes pós-cirúrgicos, o escape ocorre em sete horas após o processo e chega a atingir 100%. Assim, a taxa de escape da albumina é dez vezes superior à taxa de síntese (FLECK et al., 1985).

A comparação do proteinograma sérico de cães hígdos e cães portadores de linfoma revelou diferenças significativas entre ambos os grupos. Nos cães enfermos a concentração sérica apresentou valores diminuídos para albumina (PFA negativa) e elevados para a ceruloplasmina e haptoglobina (PFAs positivas), quando comparados aos cães hígdos (CALAZANS et al., 2009).

NOGUEIRA et al. (2002) avaliando alterações no proteinograma de cães portadores de leishmaniose visceral canina (LVC) observaram aumentos significativos na concentração sérica de proteínas totais e globulinas nos cães portadores de LVC, acompanhada da diminuição da concentração sérica da albumina.

### 2.2.2 Pré-albumina ou transtiretina (TTR)

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

Em humanos, os níveis de pré-albumina plasmática diminuem na infância, na senilidade, em casos de inflamação, trauma, desnutrição grave, doença hepática, tireoidites, perda aguda de sangue, nefropatias, problemas hormonais, ascite e hemodiluição. O aumento da sua concentração ocorre com o uso de corticosteróides, antiinflamatórios não esteroidais, fator de crescimento da insulina e na insuficiência renal crônica (FUHRMAN, 2004).

A transtiretina também é uma proteína de fase aguda negativa, que tem suas concentrações séricas reduzidas diante de um processo inflamatório. Isto ocorre devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias (CALAMITA & BURINI, 1993). E ao aumento da permeabilidade vascular durante o processo inflamatório, uma das causas mais importantes desta redução (MALAVÉ et al.,1998).

As principais proteínas marcadoras de *status* nutricional são a albumina, transtiretina (pré-albumina), transferrina e proteína ligadora de retinol.

Como a albumina possui uma meia vida longa, torna-se um parâmetro pouco eficiente para a monitoração de aspectos nutricionais. A transferrina é dependente da quantidade de ferro presente no organismo e a mensuração da proteína ligadora de retinol é cara. Por isso, a transtiretina passa a ser a proteína mais conveniente para a avaliação de terapias nutricionais, porém as alterações em sua concentração não são exclusivas das modificações do *status* nutricional, sendo também influenciada por doenças hepáticas e processos inflamatórios (CYNOBER, 2009).

Segundo CYNOBER (2009) para estabelecer a possível origem das alterações na concentração da transtiretina e preciso analisar outras PFAs, o que pode definir determinadas situações clínicas:

- comprometimento do *status* nutricional - PCR e GPA com valores normais acompanhado de diminuição da TTR;
- melhoria no *status* nutricional - PCR com valores dentro da normalidade acompanhado de elevação da TTR;
- redução da inflamação com ou sem melhora nutricional - PCR diminuída e TTR aumentada;
- resposta inflamatória - PCR aumentada e TTR diminuída.

### 2.2.3 Transferrina

Também conhecida por siderofilina é uma glicoproteína responsável pelo transporte sanguíneo de ferro, presente na fração  $\beta$ 1- globulina. Atua no controle da absorção do ferro intestinal bem como na sua distribuição no organismo (BACILA, 2003).

Sua molécula é composta pela ligação de dois átomos de  $Fe^{3+}$ . A oxidação do  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  é catalisada pela ferroxidase, que no sangue existe sob a forma de uma ou mais proteínas (ceruloplasmina, ferroxidase I e ferroxidase II). A transferrina libera, para o metabolismo, somente um dos dois átomos de  $Fe^{3+}$  que, então, se reduz a  $Fe^{2+}$  para as reações de formação de hemoglobina, ferritina (nos órgãos hematopoiéticos), mioglobina (músculos), de enzimas heme (todas as células) e para excreção no suor e na bile. O ferro é estocado sob forma de

ferritina (ferro absorvível) e/ou hemossiderina (forma inabsorvível) (BACILA, 2003). Possui efeito bactericida, pois indisponibiliza o  $\text{Fe}^{3+}$  para bactérias quando ocorre um processo inflamatório (JAIN et al., 2011).

A quantificação sérica da transferrina é utilizada para avaliar o metabolismo do ferro no organismo dos animais. Níveis diminuídos de transferrina podem ser conseqüência da produção inadequada de transferrina por danos nos hepatócitos, doença renal, leucemias, inflamação aguda e crônica. Os níveis elevados podem indicar deficiência grave de ferro, desnutrição ou gestação (JAIN, 1993).

A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa e seus valores decrescem de acordo com a enfermidade apresentada. Possui vida média de aproximadamente oito a 10 dias responde com rapidez a mudanças no estado nutricional, porém, seus níveis são afetados por várias doenças, inclusive insuficiência hepática, inflamação, insuficiência cardíaca e mudanças no metabolismo do ferro (FUHRMAN et al., 2004).

PIRES et al. (2011) avaliaram o metabolismo do ferro em cães quanto idade e o sexo. A transferrina, não apresentou alteração significativa segundo o sexo, porém houve diferença significativa em relação às médias de faixa etária, apresentando em cães adultos valores séricos superiores aos dos jovens.

#### 2.2.4 Ferritina

Composta principalmente por moléculas de apoferritina é dotada de grande capacidade de agregar átomos de ferro, distribuindo-os no organismo e disponibilizando-os de acordo com a necessidade encontrada em todas as células, especialmente naquelas envolvidas na síntese e no metabolismo de compostos férricos (BACILA, 2003).

A principal função desta proteína é acumular o ferro intracelular protegendo a célula dos efeitos tóxicos do metal livre. É encontrada também nas células do sistema mononuclear fagocitário, baço e medula óssea e, em menores quantidades, no coração, pâncreas e rins. A quantidade circulante no plasma reflete o nível de ferro estocado no organismo (JAIN, 1993).

Como PFA, sua concentração eleva-se em resposta a infecções, traumatismos, inflamações agudas, neoplasias, anemias hemolíticas e nas lesões hepáticas (FRIEDRICHS et al., 2010).

Em um trabalho avaliaram a hiperferritinemia em cães, principalmente com neoplasias (sarcomas e linfomas), inflamação e doença hepática. Os cães apresentaram hiperferritinemia nas seguintes doenças (com as respectivas porcentagens) anemia hemolítica imunomediada (94%), sarcoma (89%), hepatopatias (79%), linfoma (65%) e doenças inflamatórias (40%) (FRIEDRICHS et al., 2010).

KAZMIERSKI et al.(2001) relataram que cães portadores de linfoma apresentaram maiores concentrações plasmáticas de ferritina, quando comparados a cães com osteossarcoma, independente do sexo e faixa etária.

#### 2.2.5 Proteína C reativa (PCR)

A PCR foi a primeira PFA descrita na literatura e sua descoberta ocorreu em humanos. Na ocasião da sua identificação, destacou-se sua capacidade de vincular-se a polissacarídeos C de pneumococos e desde então, vem sendo utilizada como um marcador extremamente sensível em reações de fase aguda (CERÓN et al., 2005).

É utilizada como marcador de resposta inflamatória em cães e sua elevação sérica precede qualquer alteração leucocitária, podendo aumentar de 100 a 1.000 vezes dentro de 24 e 48 horas (NAKAMURA et al., 2008; CRAY et al., 2009).

Sua elevação ocorre em diversas circunstâncias como no trauma, artrite e poliartrite, obstrução intestinal, doença inflamatória intestinal, linfoma, pancreatite aguda, piometra, endotoxemia causada por *E. coli*, babesiose, infecções por *Bordetella bronchiseptica*, *Ehrlichia canis* e parvovírus, leishmaniose, leptospirose, tripanossomíase e enterite bacteriana (CERÓN et al., 2005; ECKERSALL & BELL 2010).

Estudo em cadelas com piometra demonstrou que a proteína C reativa e o fibrinogênio são bons marcadores de inflamação e a mensuração destas

PFAs deveria ser mais utilizada na rotina clínica de cadelas com essa enfermidade (CARVALHO et al., 2008).

MYLONAKIS et al. (2011) demonstraram que as concentrações séricas de PCR, amilóide A sérica e haptoglobina se elevaram em cães com erliquiose apresentando mielossupressão quando comparados aos cães com mesma enfermidade, porém, sem apresentação de mielossupressão. Ressaltaram ainda, que o tempo de congelamento das amostras a serem analisadas pode interferir nos resultados das PFAs.

Avaliando a cinética das PFAs em cães, antes e depois de serem infectados com *Leishmania infantum* e após a terapia com alopurinol, MARTINEZ-SUBIELA et al. (2011) observaram um aumento significativo da proteína C reativa durante dois a quatro meses após a infecção, permanecendo elevada até o início do tratamento. A elevação máxima foi atingida aos três meses aumentando seis vezes o valor obtido antes da infecção.

ECKERSALL & BELL (2010) relataram que os biomarcadores da inflamação e infecção em cães cujas concentrações plasmáticas mais se elevam no plasma são as PFAs, dentre elas a PCR, SAA, Hp e AGP, entretanto as elevações da CRP e SAA são mais expressivas que as de Hp e AGP.

#### 2.2.6 Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma glicoproteína hexamérica com função importante na homeostase e coagulação. Sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos inflamatórios, infecciosos e neoplásicos, sendo bom indicador de resposta a uma infecção aguda (KANEKO et al., 2008).

A concentração plasmática do fibrinogênio aumenta por vários dias, atingindo o pico entre o quinto e sétimo dia do processo inflamatório. Fatores como a idade, sexo, exercício ou hemorragias não interferem na sua concentração e o grau de hiperfibrinogenemia pode refletir a severidade da inflamação (WEISS & WARDROP, 2010).

Segundo VECINA et al. (2006) a determinação do fibrinogênio plasmático é um importante coadjuvante para o diagnóstico em processos

inflamatórios de cães, pois o mesmo sofre alterações antes do leucograma indicar aumento da atividade leucopoiética de origem inflamatória com desvio a esquerda.

### 2.2.7 Haptoglobina (Hp)

É uma glicoproteína, formada por duas subunidades alfa e beta que se estabilizam ao ligarem-se especificamente à hemoglobina, formando um complexo que será direcionado da circulação para o sistema mononuclear fagocitário onde ocorrerá a reciclagem do íon ferro durante o processo da hemocaterese e na defesa contra patógenos (CORAZZA et al., 1997).

É considerada uma das principais proteínas de fase aguda em todas as espécies, principalmente em bovinos, nos quais constitui a principal proteína de fase aguda. A elevação de seus valores em cães é ocasionada por processos inflamatórios, corticoterapia (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001), tripanossomíases, leishmaniose, trauma e síndrome de Cushing (CERÓN et al., 2005).

Segundo CERÓN et al.(2005) a haptoglobina pode ser detectada na circulação 24 horas após o trauma e suas concentrações chegam ao pico máximo em quatro dias. Suas funções são descritas como ligante de hemoglobina, agente bacteriostático e fator estimulador de angiogênese, participa no metabolismo de lipídios e possui um importante efeito imunomodulador.

A haptoglobina também pode ser utilizada como marcador de infecção bacteriana secundária em cães com gastroenterite hemorrágica, sugerindo a gravidade do processo inflamatório ocasionado pelo parvovírus canino (KOGIKA et al., 2003).

PLANELLAS et al. (2009) investigaram as HP e PCR em cadelas com neoplasias mamárias e encontraram aumentos moderados nas concentrações séricas de ambas as proteínas quando comparadas a cadelas híginas.

A mensuração da PCR em conjunto com a HP em cães obesos “resistentes a insulina” submetidos à restrição dietética, demonstrou que as concentrações séricas de ambas as proteínas no início do regime dietético

estavam aumentadas e diminuíram após redução do tecido adiposo, sugerindo que estas PFAs podem estar ligadas a uma resposta inflamatória subclínica em casos de obesidade. Também foi demonstrado que a diminuição de TNF-  $\alpha$  pode ter envolvimento no desenvolvimento da resistência à insulina detectada nestes animais (GERMAN et al., 2009).

#### 2.2.8 Alfa-1 glicoproteína ácida (AGP)

A AGP apresenta propriedades imunomoduladoras, de reparo e de cicatrização; se liga a maioria das drogas e agentes inespecíficos, apresentando sua concentração elevada na babesiose, erliquiose, parvovirose e neoplasias como linfoma, sarcoma e carcinoma (CERÓN et al. 2005). Em cadelas com piometra, as quantidades de alfa-1 glicoproteína ácida variam de acordo com o aumento da severidade do problema e com o tempo de internação (HAGMAN, 2011).

Segundo CERÓN et al.(2005) a alfa-1 glicoproteína ácida ainda possui diversas funções como agente antiinflamatório e imunomoduladoras, aumentando a secreção da IL-1. A elevação sérica da AGP depende do tipo de estimulação; geralmente inicia cinco dias após sua ativação, atingindo o pico máximo em sete dias. Em relação à magnitude de resposta, a alfa-1 glicoproteína ácida apresenta resposta moderada.

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

Em investigação clínico-laboratorial, a PCR, SAA, AGP e Hp de nove cães com meningite-arterite responsiva a esteróides (enfermidade caracterizada por um infiltrado de células inflamatórias nas meninges) apresentaram elevação sérica antes e durante o tratamento e a AGP foi também descrita como importante no diagnóstico, acompanhamento do tratamento e detecção de recidiva de casos de meningite (LOWRIE et al., 2009).

### 2.2.9 Amilóide A sérica (SAA)

Amilóide A sérica é uma apolipoproteína hidrofóbica que desempenha diversas funções, como o transporte e o envolvimento no metabolismo do colesterol, possuindo efeito antiinflamatório, causando adesão e quimiotaxia de células fagocitárias e linfócitos (PETERSEN et al., 2004).

Integrando o grupo das PFAs, sua mensuração, até o advento da imunoturbidimetria era limitada, porém, ainda é importante a padronização da calibração desta técnica, havendo necessidades de maiores pesquisas envolvendo a imunoturbidimetria e a SAA (CERÓN et al., 2005).

A SAA tem sido considerada uma das mais importantes PFAs (ECKERSALL & BELL 2010). Na reação de fase aguda em cães a SAA tem sua concentração elevada em torno de 10 vezes o valor normal, se igualando ao aumento que ocorre na proteína C reativa (PETERSEN et al., 2004). Entretanto, MURATA et al. (2004), consideram a elevação da amilóide A sérica moderada, variando de duas a 10 vezes, em contraste com a proteína C reativa, que tem seus valores plasmáticos elevados em 10 a 100 vezes.

As concentrações de SAA encontram-se elevadas em cães devido à infecção por parvovírus, *Bordetella bronchiseptica* e leishmaniose (CERÓN et al., 2005).

Em indução experimental de injúria na mucosa gástrica em cães, devido a administração de 200 mg/Kg de ácido acetilsalicílico, por via oral, foi avaliada a reação de fase aguda e acompanhamento da lesão por endoscopia. Dentre as concentrações das principais PFAs, SAA apresentou o maior aumento, aproximadamente 39 vezes o valor mensurado antes da lesão (BAYRAMIL & ULUTAS, 2008).

### 2.2.10 Ceruloplasmina (CP)

É uma glicoproteína ( $\alpha$ -1), descrita como PFA transportadora do cobre, essencial para a eritropoiese, com efeito antioxidante nas células e tecidos, a fim de protegê-los de compostos gerados pela fagocitose de microorganismos e

debris de tecidos e redução de neutrófilos anexados ao endotélio (GRUYS et al., 1994; CERÓN et al., 2005).

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

A ceruloplasmina avaliada em conjunto com outras PFAs, apresenta menor aumento na concentração sérica de cães com parvovirose; porém, em comparação entre valor de normalidade, sua alteração foi maior quando comparado a outras PFAs, resultado que a apontou como indicador precoce do processo inflamatório em cães (KOGIKA et al., 2003).

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

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

### 2.3 Índice de avaliação das proteínas de fase aguda

Existem vários índices de avaliação das proteínas de fase aguda tanto em animais como em pessoas. Esses índices são utilizados como prognóstico de índice inflamatório e nutricional (PINI) para humanos, como índice de fase aguda (API) em bovinos e índice nutricional e de fase aguda (NAPI) utilizado para avaliar a sensibilidade e especificidade das PFAs em alterações em animais aparentemente saudáveis. O NAPI ajuda na monitoração da saúde de um conjunto de animais em em casos individuais. Esses índices são calculados utilizando os valores das concentrações das PFAs positivas e negativas que se elevam rapidamente ou mais lentamente pela seguinte fórmula (JAIN et al., 2011):

$$\text{NAPI} = \frac{\text{Valores de PFA positiva (rápida)} \times \text{Valores de PFA positiva (lenta)}}{\text{Valores de PFA negativa (rápida)} \times \text{Valores de PFA negativa (lenta)}}$$

O índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN) é um método indicador de saúde em seres humanos, que além de ser um teste simples e pouco dispendioso, fornece prognóstico inflamatório e nutricional. Tem sido utilizado em exames regulares de manutenção em pacientes que realizavam hemodiálise, a fim de detectar o início precoce da inflamação e desnutrição. O IPIN é calculado pela seguinte fórmula (INGENBLEEK & CARPENTIER, 1985):

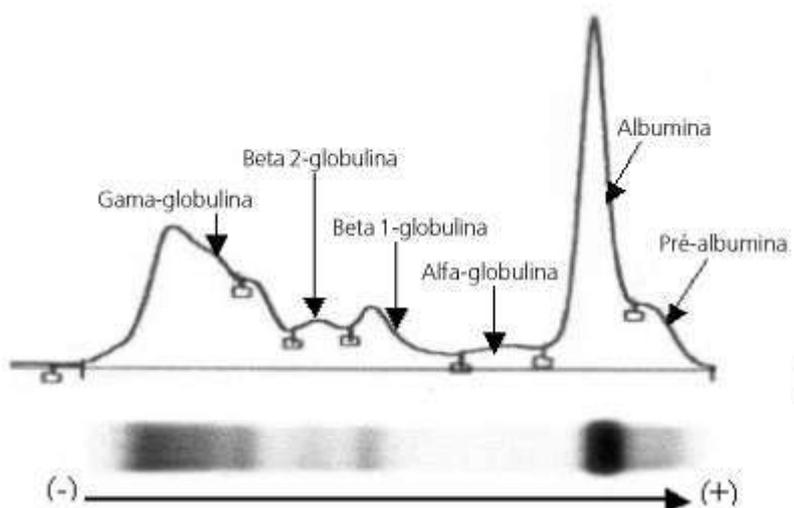
$$\frac{\text{Glicoproteína ácida alfa-1 (AGP)} \times \text{Proteína C-reativa (PCR)}}{\text{Albumina} \times \text{Transtiretina}}$$

É considerado normal, quando o valor obtido no IPIN for  $\leq 1$  e  $\text{IPIN} \geq 1$  são considerados níveis altos. Como o índice IPIN exige muitas avaliações a relação PCR/Alb pode ser uma alternativa para sua simplificação, uma vez que estas duas proteínas correlacionam-se negativamente, apresentam o mesmo comportamento que o IPIN. Portanto, esse outro índice poderia ser mais utilizado devido à redução do custo e à facilidade da dosagem, já que a albumina e a PCR

são exames realizados mais frequentemente na rotina clínica (CORREA et al., 2002).

## 2.4 Principais técnicas de mensuração das PFAs

O fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis métodos de identificação de proteínas sanguíneas. Esta pode ser por meio da eletroforese em gel de agarose (Figura 2) ou em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). A eletroforese permite identificar as principais PFAs como albumina, pré-albumina, transferrina, ferritina, PCR, amilóide A sérica, haptoglobina, ceruloplasmina, fibrinogênio e alfa-1 glicoproteína ácida (FAGLIARI et al., 1998; KANEKO et al., 2008).



1. FIGURA 2: - Representação esquemática de eletroforese em gel de agarose e fracionamento eletroforético

Fonte: <http://www.scielo.br/pdf/rbca/v4n3/14665.pdf>

A utilização de agarose permite que os resultados tenham sensibilidade, que podem ser agrupados em três níveis de qualidade técnica, classificados de 1 a 3, sendo o nível 1 a tradicional separação “microzonal”, adequado à determinação quantitativa por densitometria das cinco zonas classificadas por albumina, alfa 1, alfa 2, beta e gama-globulina. O nível 2 é

dotado de uma maior capacidade resolutive devido a uma melhor exploração densitométrica que, por meio da projeção televisiva de imagens bidimensionais, permite evidenciar diversas proteínas que fazem parte das cinco zonas eletroforéticas. O nível 3 é usado exclusivamente nas interpretações qualitativa e semi-quantitativa conjuntamente, e deve ser associado aos métodos específicos de imunquímica para as dosagens quantitativas (KANEKO et al., 2008; NAOUM, 1999).

A eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), permite identificar mais de 20 frações de proteínas. É uma técnica relativamente simples de ser realizada, que possibilita a avaliação de concentrações séricas de proteínas mesmo em concentrações baixas. O dodecil sulfato de sódio (SDS) é um detergente anfipático cuja função é desnaturar as proteínas e convertê-las numa estrutura linear e as torna carregadas negativamente, para que quando submetidas ao gel de poliacrilamida, migrem para o pólo positivo e a velocidade desta migração depende do seu peso molecular (FAGLIARI et al, 1998).

Para mensuração do fibrinogênio a técnica mais utilizada é a de refratometria sendo o fibrinogênio obtido pela diferença da mensuração da proteína do plasma antes e depois deste ser submetido a 56 °C, temperatura na qual o fibrinogênio é desnaturado (JAIN, 1993).

A mensuração da albumina é por meio de método colorimétrico, por reação com o verde de bromocresol e a leitura em espectrofotômetro (JAIN, 1993).

A nefelometria é uma técnica analítica que se baseia na dispersão da irradiação da luz que atravessa as partículas da matéria. Encontra-se disponível no mercado reagentes comerciais que quantificam as PFAs isoladamente principalmente a haptoglobina, pré-albumina e ceruloplasmina (RODRIGUES, 2006, CYNOBER, 2009).

Há também reagentes comerciais que utilizam a técnica de imunoturbidimetria conhecida também por turbidimetria que se baseia na medida da diminuição da intensidade da luz incidente quando passa através de uma suspensão de partículas, que mensura principalmente PCR, SAA, AGP, transferrina e ferritina (KANEKO et al., 2008).

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nos últimos anos a pesquisa enfatizando as PFAs tem conquistado espaço na medicina veterinária, principalmente na área de animais de companhia em cães. Entretanto, ainda se faz necessária a conscientização dos clínicos quanto à solicitação da mensuração destas proteínas, pois, somente será estabelecido valores de referências e definida as causas das alterações quanto a raça, idade e sexo, quando houver um maior fluxo laboratorial destes exames, incentivando assim o desenvolvimento de mais estudos sobre tão importantes elementos de resposta de fase aguda.

A utilização das PFAs possibilita o clínico estabelecer um diagnóstico precoce da enfermidade, influenciando no tratamento tanto terapêutico como cirúrgico, antes da debilitação do animal proporcionando melhores prognósticos.

Na clínica a prevenção do aparecimento dos sinais clínicos de uma determinada enfermidade atua como uma excelente medida profilática evitando a debilitação, aumentando a longevidade e preservando o bem estar do animal.

## REFERÊNCIAS

1. AURÉLIO. Mini dicionário Aurélio. 8. ed. Disponível em: <http://www.editorapositivo.com.br/editora-positivo/dicionarios/aurelio/mini-aurelio.html>. Acesso em: 30 julho de 2011.
2. BACILA, M. Bioquímica veterinária, 2. ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003. 583p.
3. BAYRAMLI, G.; ULUTAS, B. Acute phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 37, p. 312-316, 2008.
4. CALAMITA, Z.; BURINI, R. C. Fatores reguladores dos níveis plasmáticos de transtiretina e proteína ligadora do retinol. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**. Rio de Janeiro, v. 29, p. 148-153, 1993.
5. CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. B.; CASTRO, J. H. T.; FERNANDES, S. C.; CÉSAR, J. R. F.; RODIGHIERI, S. M. Proteinograma sérico de cães sadios e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1044-1048, 2009.
6. CARVALHO, C. C. D.; RÉGO, E. W.; QUEQUE, M.; SOARES, P. C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2008.
7. CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 34, p. 85-99, 2005.

8. CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute phase response in animals: A review. **Comparative Medicine**, Memphis, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.
9. CORAZZA, M.; BIZZETI M.; VERGARI O.; DEMI S. Dati preliminari sulla determinazione dell'aptoglobina in cani sani ed affetti da patologie in fase acuta e cronica. **Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria de Pisa**, Pisa, v. 12, p. 241-249, 1997.
10. CORRÊA, C. R.; BURINI, R. C. Proteínas plasmáticas positivas à fase aguda. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 36, p. 48-56, 2000.
11. CORRÊA, C. R.; ANGELELI, A. Y. O.; CAMARGO, N. R.; BARBOSA, L. Comparação entre a relação PCR/albumina e o índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 183-190, 2002.
12. CYNOBER, L. Basics in clinical nutrition: Some laboratory measures of response to nutrition in research and clinical studies. **E-SPEN, The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**. v. 4, p. 226–228, 2009.
13. ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; NOLAN, A. M.; MCCOMB, C.; WATERSON, M. M.; HOGARTH, C. J.; SCOTT, E. M. E.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 89, p. 1488-1501, 2006.
14. ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, London, v.185, p. 23-27, 2010.
15. FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; MARCHIO, W.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de vacas das raças Nelore (*Bos indicus*) e

Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murah durante a gestação, no dia do parto e no puerpério. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 273-282, 1998.

16. FLECK, A.; COLLEY, C. M.; MYERES, M. A. Liver export proteins and trauma. **British Medical Bulletin**. Edinburgh, v. 41, p. 265-273, 1985.

17. FRIEDRICH, K. R.; THOMAS, C.; PLIER, M.; ANDREWS, G. A.; CHAVEY, P. S.; YOUNG, K. M. Evaluation of serum ferritin as a tumor marker of canine histiocytic sarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 24, p. 904-911, 2010.

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

19. GERMAN, A. J.; HERVERA, M.; HUNTER, L.; HOLDEN, S. L.; MORRIS, P. J.; BIOURGE, V.; TRAYHURN, P. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 37, p. 214-226, 2009.

20. GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary Bulletin**, New York, v. 64, p. 1009-1018, 1994.

21. GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal Zhejiang University Science**, New York, v. 6, p. 1045-1056, 2005.

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

23. INGENBLEEK, Y.; CARPENTIER, Y. A. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Berne, v. 55, p. 91-101, 1985
24. JAIN, N. C. Acute phase proteins. In: KIRK, R.W. **Current veterinary therapy X: small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1989. p.468-471.
25. JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Pennsylvania: Lea & Febiger. 1993. 417p.
26. JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.
27. JOHNSON, A. M.; MERLINI, G.; SHELDON, J.; ICHIHARA, K. Clinical indications for plasma proteins assays: transthyretin (prealbumin) in inflammation and malnutrition. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45, p. 419-426, 2007.
28. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 912 p.
29. KAZMIERSKI, K. J.; OGILVIE, G. K.; FETTMAN, M. J.; LANA, S. E.; WALTON, J. A.; HANSEN, R. A.; RICHARDSON, K. L.; HAMAR, D. W.; BEDWELL, C. L.; ANDREWS, G.; CHAVEY, S. Serum zinc, chromium, and iron concentrations in dogs with lymphoma and osteosarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 15, p. 585–588, 2001.
30. KOGIKA, M. M.; PEREIRA, D. A.; ELIAS, F.; NOTOMI, M. K. ; DELAYTE, E. H.; KAWAHARA, R.; HAGIWARA, M. K. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e glicoproteína ácida em cães com gastrenterite hemorrágica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 513-517, 2003.

31. LOWRIE, M.; PENDERIS, J.; ECKERSALL, P. D.; MCLAUGHIN, M.; MELLOR, D.; ANDERSON, T. J. The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs. **Veterinary Journal**, London, v. 182, p. 125-130, 2009.
32. MALAVÉ, I.; VETHENCOURT, M. A.; PIRELA, M.; CORDERO, R. Serum levels of thyroxine-binding prealbumin, C-reactive protein and interleukin-6 in protein- energy undernourished children and normal controls without or with associated clinical infectious. **Jornal of Tropical Pediatrics**, London, v. 44, p. 256-262, 1998.
33. MARTÍNEZ, S. F.; TECLES, M. D.; PARRA, J. J.; CERÓN. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinária. **Anales Veterinaria Murcia**, Murcia, v. 17, p. 97-114, 2001.
34. MARTINEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. **Veterinarni Medicina**, Praha, v. 50, p. 39–46, 2005.
35. MARTINEZ-SUBIELA, S.; STRAUSS-AYALI, D.; CERÓN, J. J.; BANETH, G. Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, Les Ulis, v. 180, p. 197-202, 2011.
36. MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Veterinary Journal**. London, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.
37. MYLONAKIS, M. E.; CERON, J. J.; SIARKOU, V. I.; MARTINEZ, S.; TVARIJONAVICIUTE, A.; KOUTINAS, A. F.; HARRUS, S. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 25, p. 811-817, 2011.

38. NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, K. O.; KOSHINO, NAKASHIMA, A. S.; FUJINO; TSUJIMOTO, H. C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. **Clinical Pathology**, Tokyo, v. 70, n. 2, p. 127-133, 2008.

39. NAOUM, P. C. **Eletroforese: Técnicas e Diagnósticos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Santos Editora.1999, 212 p.

40. NOGUEIRA F. S.; SILVA C. L. S. P.; ARAUJO S. A.; BORGES J. H. R. Alterações no proteinograma de animais portadores de leishmaniose visceral canina. **Ciências Agrárias e da Saúde-FEA**, Andradina, v. 2, n. 2, p. 25-27, 2002.

41. NOGUEIRA, A. F. S. **Proteínas de fase aguda no soro sanguíneo e no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução intestinal experimental**. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Estadual de São Paulo- Campus de Jaboticabal, Jabotical.

42. PLANELLAS, M.; BASSOLS, A.; SIRACUSA, C.; SACO, Y.; GIMÉNEZ, M.; PATO, R.; PASTOR, J. Evaluation of serum haptoglobin and c-reactive protein in dogs with mamary tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 38, p. 348-352, 2009.

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

44. PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 35, p. 163-187, 2004.

45. PIRES. L. S. A.; DITTRICH, R. L.; SOUZA, A. C. S.; BERTO, M. A. F.; PATRICIO, L. F. L. Parâmetros utilizados na avaliação do metabolismo do ferro em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 272-277, 2011.

46. RODRIGUES, V. **Hemograma, teores séricos de proteínas e de cortisol de fêmeas caninas (*canis familiaris* – linnaeus, 1758) submetidas à operação cesariana**. 2006. 84 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP, Jaboticabal.
47. THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 592p.
48. TORRES, H. M. Eletroforese de proteínas. **Richet Nouvelles**, Rio de Janeiro, v.3, p. 1-4, 2008.
49. ULUTAS, P. A.; MUSAL, B.; KIRAL, F.; BILDIK, A. Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. **Research in Veterinary Science**, London, v. 86, p. 373–376, 2009.
50. VECINA, J. F.; PATRÍCIO, R. F.; CIARLINI, P. C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. **Ciências Veterinárias dos Trópicos**, Recife, v. 9, n. 1, p. 31-35, 2006.
51. WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Shalm's veterinary hematology**. 6 ed, Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2010. 1232 p.