

SANTOS, Enrico Jardim Clemente [1]

SANTOS, Enrico Jardim. Análise da Aplicação Terapêutica das Células Tronco na Medicina Veterinária. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 02, Vol. 01. pp 269-295, Abril de 2017. ISSN:2448-0959

Contents

- RESUMO
- INTRODUÇÃO
- TIPOS DE CÉLULAS TRONCO
- FONTES DE CÉLULAS TRONCO
- TERAPIA COM CÉLULAS TRONCO
- VIAS DE APLICAÇÃO
- APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS
- OSTEOARTRITES
- LESÕES TENDÍNEAS
- NÃO UNIÃO ÓSSEA
- LESÕES MEDULARES
- APLASIA MEDULA
- SEQUELA NEUROLÓGICA DE CINOMOSE
- ULCERA DE CORNEA
- CERATOCONJUTIVITE SECA
- DOENÇA RENAL
- DERMATOLOGIA
- DOENÇA INFLAMATÓRIA DO TRATO INTESTINAL
- CARDIOMIOPATIA
- CONCLUSÃO
- REFERÊNCIAS

RESUMO

Com a queda da taxa de natalidade, as famílias passaram a adotar os animais domésticos como uma forma a preencher o espaço afetivo, antes ocupado pelos filhos. O avanço da medicina veterinária propiciou um aumento significativo na expectativa de vida dos animais. Estudos demonstram que a longevidade de cães e gatos está diretamente relacionada à melhoria da qualidade de vida dos animais. Entretanto, tem-se constatado também um aumento na incidência de algumas doenças assim como o surgimento de novas doenças, as quais se encontram diretamente relacionadas ao quadro de desgaste do organismo. Tendo como base este quadro, novas linhas terapêuticas vêm sendo introduzidas no mercado veterinário através dos anos dentre as quais, a terapia com células tronco. Esta surge como uma nova e promissora tecnologia que visa à melhoria da qualidade de vida dos animais podendo, em alguns casos, resultar na cura da doença. Neste texto iremos abordar as aplicações terapêuticas das células tronco no tratamento de doenças que acometem tanto os pequenos como grandes animais.

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da medicina veterinária, a expectativa de vida dos animais vem aumentando significativamente. Pesquisas têm demonstrando que a longevidade de cães e gatos está diretamente relacionada à melhoria da qualidade de vida (1-3). Entretanto, em decorrência do prolongamento da vida, tem-se constatado tanto o aumento da incidência de algumas doenças assim como o surgimento de novas, as quais se encontram diretamente relacionadas com o desgaste do organismo (4,5).

Tendo como base este quadro, novas linhas terapêuticas estão sendo introduzidas no mercado veterinário. Dentre estas temos a nutrição, fisioterapia, acupuntura, ozonioterapia e homeopatia. A utilização destas novas abordagens vem resultando em uma considerável melhoria na qualidade de vida dos animais (1-3,6-8).

Devido à dificuldade de se curar algumas injurias ou doenças de alta incidência com as tecnologias atuais, os profissionais da área veterinária vêm se mostrando interessados no desenvolvimento de novas metodologias terapêuticas.

Recentemente, uma nova abordagem terapêutica passou a estar disponível ao mercado médico veterinário: a terapia com células tronco. Esta surge como uma promissora tecnologia que visa à melhoria da qualidade de vida dos animais podendo, em alguns casos, resultar na cura de doenças até então classificadas como incuráveis (9,10).

TIPOS DE CÉLULAS TRONCO

As células tronco podem ser isoladas em diversos momentos do desenvolvimento de nosso organismo sendo classificadas de acordo com sua origem. Existem basicamente dois tipos de células tronco: as células tronco embrionárias (CTEs) que são derivadas da massa interna do blastocisto e as células tronco adultas que tendem a serem divididas entre células tronco mesenquimais (CTMs) e células tronco hematopoiéticas (CTHs).

Embora apresentem grande potencial terapêutico, uma vez que são capazes de dar origem a qualquer tipo celular que constitui o organismo, as CTEs apresentam riscos relacionados tanto a rejeição imunológica como a formação de tumores (11,12). Adicione-se o fato de ser necessária a obtenção e destruição de um blastocisto que de forma equivalente a humana, pode ser visto como uma violação dos princípios éticos. Tal fato não ocorre com as células tronco adultas uma vez que são obtidas a partir de tecidos que constituem o organismo adulto plenamente desenvolvido.

As CTHs são predominantemente encontradas na medula óssea, embora possam ser detectadas, em menor número, na corrente sanguínea. Embora raras, as CTHs são programadas de forma a permitir a contínua e eficiente produção dos componentes celulares sanguíneos, funcionalmente maduros, dentre os quais temos as plaquetas, glóbulos vermelhos e brancos. Portanto, as CTHs são responsáveis pela manutenção do sistema hematopoiético durante o transcorrer da vida do organismo (13-15). Em animais a primeira transfusão sanguínea relatada, em cães, foi realizada no ano de 1665 por Richard Lower na Universidade de Oxford.

As CTMs são células-tronco multipotentes adultas que podem ser obtidas a partir de praticamente todos os tecidos que constituem o organismo. Sendo classicamente definidas com base em sua capacidade de aderir ao plástico, morfologia fibroblastóide e de

diferenciação em tecido ósseo, adiposo e cartilaginoso, as CTMs possuem também características que permitem atuarem de forma a modular o sistema imunológico do animal receptor. Estudos vêm demonstrando que as CTMs promovem a reparação dos tecidos lesionados por meio dos processos de diferenciação e modulação de mediadores, dentre os quais, os relacionados a resposta imune. Estes tem por objetivo a diminuição da produção de células e citocinas pró-inflamatórias além de um aumento do fluxo sanguíneo de forma a promover o processo de reparação tecidual sem que ocorra a geração de cicatrizes. Desta forma, as CTMs se apresentam como a mais promissora opção terapêutica no que tange a terapia celular (16,17)

FONTES DE CÉLULAS TRONCO

Isoladas inicialmente na década de 60 a partir da medula óssea de camundongos, as CTMs tem sido obtidas a partir de inúmeras fontes teciduais que constituem o organismos. Dentre estas, visando sua utilização terapêutica na medicina veterinária, o tecido adiposo, a medula óssea e o cordão umbilical assim como o sangue do mesmo, são as fontes utilizadas de forma mais corriqueira. Embora a concentração de CTMs varie, de acordo com a fonte tecidual, a eficácia terapêutica para cada doença, com base na origem tecidual, ainda não foi estabelecida.

Na medula óssea, localizada no canal medular dos ossos longos e nas cavidades dos ossos esponjosos, podemos encontrar ambos os tipos de células tronco adultas, ou seja, é uma fonte tanto de CTHs, responsável pela produção de todas as células sanguíneas, como das CTMs, responsáveis por darem origem as células do estroma medular, de forma a garantir a homeostase do ambiente medular para que a hematopoiese ocorra de maneira natural (18,19). Em cães e gatos a coleta do aspirado medular se realiza a partir da cabeça do fêmur, tíbia ou úmero, sendo a última menos traumática. Atualmente pode se obter aproximadamente 1 ml de sangue por 1 kg de peso corpóreo. Em equinos, a coleta é efetuada a partir do esterno de onde tende a se extrair, em média, 100 ml (20,21). Estudos demonstraram que a partir de 10 ml de sangue derivado da coleta na medula óssea é possível se obter um concentrado de aproximadamente 6×10^7 células mono nucleares. Deste, tende a se isolar entre 100 à 6000 CTMs as quais podem ser expandidas, armazenadas ou imediatamente aplicadas no animal (22-25).

A utilização do cordão umbilical, como fonte de obtenção de CTMs, tem como vantagens se utilizar um material que seria descartado após o nascimento, não necessitar de uma metodologia invasiva, evitar riscos decorrentes de um procedimento cirúrgico além de não envolver questões éticas (26,27). Os primeiros trabalhos demonstraram que as CTMs presentes no cordão umbilical apresentavam características similares as da medula óssea (26,28,29). O procedimento utilizado para o isolamento das CTMs pode variar desde a secção de todo fragmento até a separação dos vasos e pequenos fragmentos para posterior processamento (30,31). Já o sangue do cordão umbilical, que apresenta um número CTMs inferior ao presente na medula óssea, pode ser obtido por meio de diferentes metodologias. O procedimento, realizado no momento do parto, logo após a secção do cordão com o recém nascido, pode ser efetuado tanto pré como pós-dequitação (com a placenta ainda dentro ou fora do útero), em sistemas fechados por meio da utilização de bolsas de coleta ou sistemas abertos por meio de seringa e agulha, normalmente de 16 g, metodologia esta utilizada com maior frequência na medicina veterinária (32). Após sua obtenção, as CTMs podem ser expandidas, armazenadas ou aplicadas imediatamente no animal (23,25). Porém, a grande desvantagem é a impossibilidade de coletas adicionais caso ocorra problemas relacionados a contaminação do material, no momento da coleta, ou a impossibilidade de ser isolar as CTMs por meio do processamento.

O tecido adiposo é constituído principalmente de adipócitos maduros, células do músculo liso, células endoteliais, conhecidas por estarem envolvidas no processo de angiogênese, fibroblastos, células sanguíneas, como monócitos e macrófagos conhecidos pela elevada expressão de citocinas anti-inflamatórias e interleucinas, pericitos e CTMs. Estas, presentes em uma quantidade muito superior a existente nos demais tecidos, encontram-se associadas a densa rede de capilares que revestem o tecido adiposo (33-37). Devido ao procedimento de coleta ser extremamente simples, podendo ser realizado no momento da castração ou mesmo por meio de uma pequena incisão na região inguinal abdominal ou da parede torácica, em pequenos animais, ou a partir da região glútea de equinos (38). A grande vantagem se deve a possibilidade de se obter uma grande concentração de CTMs sem que ocorra um possível comprometimento do estado clínico do animal. Além disso, caso se faça necessário, existe a possibilidade de coletas adicionais. Após serem isoladas as CTMs podem ser expandidas, armazenadas ou aplicadas imediatamente no animal (23,25).

TERAPIA COM CÉLULAS TRONCO

Embora muito se fale acerca da terapia celular como uma abordagem inovadora na medicina veterinária, a mesma já vem sendo utilizada de forma corriqueira a décadas por meio das transfusões sanguíneas e transplantes de medula óssea. O diferencial se dá em função das características multipotentes das CTMs o que propicia distintas aplicações terapêuticas.

Atualmente a medicina veterinária utiliza, no tratamento dos animais, fármacos com mecanismos moleculares de ação que atuam de forma específica. Neste sentido, a terapia com CTMs surge como uma opção terapêutica não específica uma vez que as células são capazes de sintetizar um número acentuado de moléculas com ações farmacológicas distintas.

Estudos vêm demonstrando que a capacidade terapêutica das CTMs está diretamente relacionada a suas características de diferenciação, quimiotaxia, imunomodulatória, imunossupressora, efeitos tróficos, parácrino, anti-apoptótica, anti-fibrótica, angiogênica, e de mitose das células envolvidas no processo de reparação tecidual (39). Embora tais processos ainda não estejam completamente elucidados, diversos mecanismos de ação já foram determinados.

CAPACIDADE TERAPÊUTICA	MECANISMO DE AÇÃO	EXEMPLO
Diferenciação	As CTMs adquirem a morfologia e funcionalidade as células lesionadas.	Ao serem introduzidas em uma lesão tendínea as CTMs se diferenciam em tenócitos funcionais.
Quimiotaxia	Por meio da ação de fatores tróficos as CTMs são atraídas para o local da lesão.	Após a infusão endovenosa as CTMs migram para o local da lesão o que torna a terapia pela via sistêmica viável.

Imunomodulação	As CTMs não expressão MHC-II e moléculas co-estimulatórias além de apresentarem uma baixa expressão de MHC-I.	Permite a utilização de CTMs alogênicas pois reduz consideravelmente a possibilidade de imunorrejeição além de tornar desnecessário a utilização de imunossupressores. Desta forma, o animal não tem que ser submetido a uma anestesia para a obtenção de um fragmento tecidual de onde serão obtidas as CTMs.
Anti-inflamatório	Quando presente em um ambiente inflamado as CTMs tendem a alterar o perfil homeostático diminuindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral α , interleucina-1 α e β das células do sistema imune e aumentando a produção de fatores de crescimento e citocinas anti-inflamatórias como, por exemplo, a interleucina-10	A introdução das CTMs na articulação de um animal displásico tende a resultar na diminuição da dor e conseqüentemente da claudicação.
Angiogênica	Processo de formação de novos vasos sanguíneos a partir da estrutura vascular pré-existente.	As CTMs podem ser introduzidas no local de uma ferida que devido a pouca irrigação sanguínea tende a não se fechar. Criam-se novos vasos facilitando o processo de fechamento da ferida
Anti-fibrótica	Produção de fatores pró-angiogênicos como o fator de crescimento vascular endotelial, que resulta na proliferação de células endoteliais resultando na formação de vasos sanguíneos e conseqüente diminuição da taxa de fibrose.	As CTMs podem ser introduzidas no útero de éguas acometidas por endometrite diminuindo a taxa de fibrose de forma a aumentar a possibilidade de prenhes.
Anti-apoptótica	Liberação de fatores sinalizadores de anti-apoptose de forma a inibir a mesma normalmente induzidas por meio de exposições traumáticas à hipóxia, substâncias químicas / acidez, danos e radiações.	Promovem a apoptose reversa em cardiomioblastos após isquemia, assim como neurônios danificados e fibroblastos de pulmão.

Dentre as abordagens terapêuticas que visam o processo de reparação tecidual por meio da utilização das CTMs temos:

- Autóloga - (transferência realizada a partir de fontes teciduais distintas presentes em um mesmo animal - CTMs isoladas a partir de uma biopsia sendo aplicadas na articulação do mesmo animal acometido por displasia coxofemoral);
- Singênica - (transferência realizada a partir de animais geneticamente idênticos - parto gemelar em ovinos, bovinos e caprinos);
- Alogênica - (transferência realizada a partir de animais da mesma espécie porém geneticamente distintos);
- Xenogênica - (transferência realizada a partir de animais de espécies distintas - utilizada predominantemente em pesquisas).

VIAS DE APLICAÇÃO

Para que seja obtido um resultado satisfatório, no que tange a utilização terapêutica das CTMs, diferentes fatores devem ser levados em consideração como, por exemplo, o correto diagnóstico, estado clínico do paciente, tipo celular utilizado, a localização da lesão e extensão da injúria (40). Além destes, as vias de aplicação utilizadas no processo de infusão das CTMs são de suma importância uma vez que a mesma pode influenciar no processo de migração ao local injuriado (41). Além disso, deve-se levar em consideração fatores adicionais de extrema relevância para o sucesso da terapia celular como ser de fácil realização, menos invasiva e traumática, causar mínimos efeitos colaterais e apresentar a maior taxa possível de sobrevivência celular (42).

A via de administração mais utilizada é a endovenosa, normalmente via veia cefálica, devido ao seu posicionamento anatômico privilegiado, simples e de rápido acesso ao sistema venoso, ser pouco invasiva e de fácil difusão pelo organismo, além de propiciar a possibilidade de múltiplas aplicações como mínimo de efeitos colaterais (43,44). Embora seja considerada uma via invasiva é pouco traumática não requerendo suporte médico avançado para sua utilização. Entretanto, não se deve descartar a possibilidade de efeitos secundários como febre, queda de pressão, retenção das CTMs em outros órgãos e afinidade pelos materiais cirúrgicos o que pode resultar em uma diminuição do número de células infundidas ocasionando uma menor eficiência terapêutica. Estudos demonstram que a administração das CTMs pela via endovenosa tende a reduzir, por meio de seu efeito parácrino (transmissão de sinal biológico - citocinas, interleucinas, fatores de crescimento ou anti-apoptóticos -

secretado por determinada célula que irá atuar nas células vizinhas), a probabilidade da ocorrência de insuficiência renal aguda isquêmica (45,46). A utilização de cateteres, normalmente necessários neste tipo de procedimento, tende a propiciar a formação de aglomerados celulares podendo resultar na formação de trombos (47). Sendo assim, tanto a concentração das CTMs como a velocidade de infusão devem ser cuidadosamente avaliadas quando da utilização da via endovenosa (48,49).

A via de administração local propicia a direta liberação das CTMs na área lesionada como, por exemplo, em uma aplicação intra-articular ou tendínea, permitindo uma maior retenção celular no local injuriado assim como uma menor taxa em outros órgãos. Além disso, não existe a necessidade de um estímulo local para que as CTMs migrem para a região lesionada, fato este fundamental na aplicação pela via endovenosa (41). O sucesso da ação terapêutica das CTMs está diretamente relacionada a manutenção das mesmas na região lesionada de forma que possam atuar tanto por meio de seu efeito parácrino como por diferenciação celular. Entretanto esta via de administração local necessita de sólido conhecimento anatômico e perícia cirúrgica uma vez que é uma via altamente invasiva e potencialmente traumática (50,51).

APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

O número de doenças que tem sido tratadas terapêuticamente com CTMs na medicina veterinária vêm crescendo consideravelmente. Embora pesquisas estejam sendo constantemente realizadas, visando determinar a viabilidade terapêutica ou não para diferentes doenças, a terapia com células tronco já é uma realidade comercial para diversas doenças que acometem tanto os pequenos como os grandes animais. Levando-se em consideração as três primeiras empresas a disponibilizarem ao mercado médico veterinário esta abordagem inovadora, Vetstem - Estados Unidos, Vetcell - Europa e CELLTROVET - America Latina, o número de animais tratados já passam de 15 mil animais. Portanto, a utilização terapêutica das células tronco pelo médico veterinário, já é uma realidade.

OSTEOARTRITES

Atualmente, os médicos veterinários vêm baseando o tratamento da osteoartrite (AO) na obtenção do alívio da dor por meio da utilização de fármacos anti-inflamatórios não esteróides, injeção intra-articular de ácido hialurônico e controle alimentar tendo, como a última instância, o procedimento cirúrgico (52-55). Entretanto, na última década, a terapia com CTMs surgiu de forma promissora. Devido as suas características, as CTMs vêm demonstrando possuir a capacidade de fornecer uma importante contribuição nos processos de reparação e condroproteção articular de forma a retardar a progressão da AO (56-59).

Estudo randomizado, duplo cego e controlado com placebo realizado em 21 cães com idade variando entre 1 à 11 anos de idade, diagnosticados com displasia coxofemoral bilateral comprovou que os animais submetidos a infusão intra-articular de CTMs apresentavam significativa melhora na claudicação, diminuição da dor e aumento na amplitude do movimento quando comparados com os animais controle. (50). Estudo similar foi realizado pelo mesmo grupo, tendo como objeto de estudo a AO de cotovelo, utilizando-se 14 cães com o tempo de análise de 180 dias. Os dados demonstraram que os animais tratados com CTMs pela via intra-articular apresentaram melhora estatisticamente significativa dos parâmetros de claudicação, amplitude de movimento e dor resultante da manipulação, mesmo 180 dias após a uma única infusão de CTMs (51). Em 2014, estudo randomizado realizado em 39 cães acometidos com osteoartrite de quadril, comprovou tanto a eficácia como segurança terapêutica, de uma única infusão intra-articular de CTMs, em detrimento do plasma rico em plaquetas (PRP). Os dados mostram que tanto o tratamento com CTMs como o PRP são seguros e eficazes. Entretanto, os resultados comprovaram que uma única injeção intra-articular de CTMs demonstra ser significativamente mais efetiva do que a infusão de PRP (60). Estudo envolvendo vinte e quatro cães Beagle como modelos de transecção do ligamento cruzado craniano, comprovou que as CTMs têm um efeito benéfico e sinérgico sobre a OA por meio da via de síntese de ECM, proliferação de condrócitos e ação anti-inflamatória (61).

LESÕES TENDÍNEAS

Embora sejam estruturas extremamente fortes, os tendões podem ser facilmente danificados quando submetidos a tensão excessiva. Tais lesões são comumente detectadas em cavalos de esportes de alto rendimento como galope, adestramento e salto devido ao excesso de desgaste físico ou traumas pré-existentes. Quando um tendão está danificado ocorre um processo inflamatório localizado resultando em dor, edema, aumento da temperatura e fluxo sanguíneo favorecendo a liberação de fatores pró-inflamatórios, incluindo vasodilatadores. Os tratamentos clínicos tradicionais, se limitam ao controle da fase inflamatória com o uso de anti-inflamatórios locais e sistêmicos, utilização de agentes de reconstituição como glicosaminoglicanos sulfatados ou não, além de recursos fisioterápicos como ultrassom, raios laser e terapia com ondas de choque extra-corpóreas. Entretanto, mesmo com alguns benefícios, percebe-se que estas abordagens não só requerem um longo tempo de recuperação como, em decorrência do nível de lesão, as recidivas são bastante comuns. Tal fato não consegue impedir o afastamento permanente dos animais de suas atividades esportivas uma vez que danificado o tendão, tende a ser sempre mais suscetível a novas lesões. Neste sentido as CTMs por apresentarem a habilidade de mudar sua função e morfologia, dando origem aos inúmeros tipos celulares do organismo, além de liberarem mediadores anti-inflamatórios, são uma excelente alternativa para o tratamento de lesões tendíneas (62).

A terapia com células tronco objetivando o tratamento de lesões tendíneas já é uma realidade no mercado médico veterinário já tendo sido tratados milhares de animais. As aplicações ocorrem por meio da infusão guiada por ultrassom, de uma suspensão de CTMs, diretamente na região lesionada com os resultados comprovando a eficácia e segurança no processo (20,63,64). Os estudos demonstram que para um resultado mais efetivo, os animais devem ser posteriormente submetidos a um processo de reabilitação realizado por meio de exercícios controlados (65). O tratamento com CTMs tende a ocasionar uma significativa melhora no alongamento, organização e ecogenicidade das fibras tendíneas resultando em uma recuperação eficaz do animal (66,67).

NÃO UNIÃO ÓSSEA

Na traumatologia, uma das grandes complicações é a pseudoartrose que envolve a consolidação óssea por meio de três fases inflamação, reparo e remodelação sendo que as CTMs interferem das duas primeiras (68). A não união óssea é uma complicação que ocorre em ossos escassamente recobertos com tecido muscular, como canal medular de diâmetro reduzido ou pouca vascularização. O reparo deste tipo de fratura está relacionado como os processos de condrogênese, osteogênese e remodelação tecidual (69).

Em estudo realizado, seis cães, de raça e idade variadas, apresentando não união de fratura em diversos ossos, foram submetidos a infusões de CTMs. Todos os pacientes apresentavam um ano ou mais de fratura, não tendo ocorrido êxito nos procedimentos convencionais realizados anteriormente. As CTMs foram injetadas na região de fibrose, situada entre os fragmentos da fratura, em diversos ângulos para tentar preencher todo o perímetro do defeito ósseo. Todos os animais apresentaram consolidação da fratura em questão de até três meses após a injeção das CTMs não tendo sido constatada nenhuma reação inflamatória em tecidos adjacentes ou periosteal no período pós injeção (70).

LESÕES MEDULARES

A degeneração do disco intervertebral (IVDD) com ou sem herniação discal é um estado clínico que inclui dor nas costas, paresia ou paralisia, além de características histológicas e bioquímicas. A lesão na medula espinhal pode apresentar variações de profundidade, extensão e cronicidade. Os estudos clínicos envolvendo aplicações terapêuticas de CTMs apresentaram variabilidade no que tange as características clínicas dos doentes, fontes das CTMs, vias de administração e locais de aplicação (71-73).

Quatro cães acometidos por severa lesão na medula espinhal foram submetidos a infusões de CTMs autólogas, durante o transcirúrgico, sendo posteriormente avaliados clinicamente (18 meses) e por meio de ressonância magnética (RM) (12 meses). Os animais não apresentavam qualquer tipo de sensação de dor profunda a mais de 60 dias antes do tratamento. Dez dias após o procedimento cirúrgico observou-se uma recuperação progressiva do reflexo do paniculus e resposta a dor superficial e profunda, embora ainda

houvesse baixos reflexos proprioceptivos. Observou-se um hiperreflexo nas respostas de movimento atáxico de membros posteriores embora a RM se apresentasse inalterada. A recuperação do reflexo consciente ocorreu simultaneamente a melhora das funções intestinais e urinárias em dois dos quatro cães. No 18º mês de acompanhamento clínico, observou-se considerável melhora clínica acompanhada da otimização dos movimentos, em três dos quatro cães. Apesar do ganho clínico, nenhuma resposta significativa foi detectada por meio da RM (71). Em outro estudo, sete cães com lesão crônica da medula espinha foram submetidos a uma aplicação de CTMs alogênicas. Os animais foram analisados por meio de RM e avaliação dos sintomas de forma a diagnosticar o quadro da lesão. Todos os cães apresentaram melhora da função locomotora, sensorial e maior mobilidade dos membros traseiros quando examinados 90 dias após a infusão de CTMs. Os animais foram capazes de ficar de pé, bem como dar pequenos passos. Foi observado reflexo e dor caudal em todos os animais sendo que cinco apresentaram retorno do quadro de defecação (72). Em um ensaio clínico randomizado trinta e quatro cães sem percepção de dor profunda devido a uma lesão aguda do disco intervertebral toracolombar foram submetidos à cirurgia de descompressão uma semana após diagnóstico sendo, as CTMs infundidas no transcirúrgico. Seis meses após a cirurgia os pacientes tratados com CTMs apresentaram uma taxa de recuperação total 55,6% versus os não tratados 16% ($p < 0,05$) (73).

APLASIA MEDULA

A aplasia medular (também conhecida como anemia aplásica) caracteriza-se por apresentar um quadro de pancitopenia no sangue periférico e uma hipoplasia dos três tipos celulares presentes na medula óssea. A utilização terapêutica das CTMs têm se mostrado extremamente atrativas uma vez que vêm resultando na recuperação de animais que até então tinham como única opção terapêutica as transfusões sanguíneas as quais tendem a amenizar os sintomas, não sendo suficiente para curar o animal. (Moraes 74). Uma vez introduzidas na medula óssea as CTMs, por meio da ação parácrina, inibem a apoptose, induzem o processo de mitose, regulam as funções de quiescência, autorrenovação, proliferação, mobilidade e diferenciação, reduzem os processos inflamatórios e repopulam a medula óssea de forma a restabelecer a homeostase do ambiente celular. O tratamento consiste na aplicação de CTMs diretamente na medula ou pela via endovenosa dependendo do quadro clínico do animal pois animais muito debilitados, não devem ser submetidos a um

procedimento cirúrgico (75).

Um cão fêmea, da raça Pequínês de 4 anos de idade, apresentando quadro de anemia hipoproliferativa não regenerativa, foi inicialmente tratada com os protocolos convencionais, sem apresentar melhora significativa. Devido a resposta insatisfatória o paciente foi submetido a infusões de CTMs tendo recebido cinco aplicações. Os resultados demonstraram resposta medular, com elevação da porcentagem do hematócrito até a estabilidade total da medula demonstrando que em casos de anemias não regenerativas, com redução da atividade medular, a terapia com CTMs pode resultar em uma melhora na qualidade de vida do animal (75).

SEQUELA NEUROLÓGICA DE CINMOSE

As seqüelas neurológicas da cinomose canina são consideradas irreversíveis e têm sido tratadas sintomaticamente. Até o presente momento, não existe tratamento consistente podendo resultar, em casos mais graves, em eutanásia (76). Contudo, uma nova opção terapêutica vem surgindo, a terapia com CTMs.

No primeiro estudo que tange a utilização terapêutica das CTMs foram utilizados onze cães com sequelas neurológicas, sendo que sete apresentavam manifestações clínicas recentes e quatro com sinais clínicos crônicos. Após o tratamento cinco dos sete animais que apresentavam sequelas agudas ou recentes, apresentaram remissão completa dos sinais clínicos e dois melhora parcial e momentânea. Dentre os quatro animais com sinais crônicos de seqüela, três apresentaram uma melhora substancial na primeira semana após o transplante, contudo, dois deles, após curto período de estabilidade, apresentaram novamente os mesmos sinais clínicos vistos antes do transplante (77). Estudo posterior foi realizado em dez cães na fase neurológica não viral, com quadro característico de mioclonia grave, resultante de uma degeneração avançada da bainha de mielina, paraplegia dos membros pélvicos, baixa coordenação de membros pélvicos, reduzida resposta proprioceptiva e sem crises convulsivas. Os animais foram submetidos a três aplicações de CTMs por meio da via endovenosa (48). Trinta dias após a primeira aplicação, os cães apresentaram melhora no quadro clínico pois passaram a se alimentar melhor com mais disposição melhora nos quadros gastrointestinais, respiratórios, oculares, diminuição do grau

de mioclonia e melhor sustentação dos membros pélvicos. Transcorridos trinta dias da segunda aplicação, os animais apresentavam um quadro de mioclonia bem reduzida e uma melhora consistente da capacidade locomotora sem problemas gastrointestinais, respiratórios ou oculares. Após trinta dias da terceira aplicação, sete cães não apresentavam mais o quadro de mioclonia sendo que em três era observada de maneira. Todos os animais demonstraram capacidade de locomoção normal, tanto andando quanto correndo (Aceito para publicação na MedVep).

ULCERA DE CORNEA

A úlcera de córnea, também conhecida como Ceratite Ulcerativa, é uma lesão oftalmológica, normalmente ocasionada por trauma, sendo classificada de acordo com a gravidade, extensão e profundidade da lesão. As úlceras tendem a ocasionar dor, sensibilidade à luz e lacrimejamento excessivo, coceira nos olhos, secreção ocular, vermelhidão em volta dos olhos e clareamento da córnea dos animais acometidos. Como seqüela os animais tendem a apresentar um quadro ocular turvo e fibrose o que tende a interferir na visão (78-80). As CTMs, localizadas na região do limbo, são responsáveis pela manutenção da transparência e funcionalidade corneana (81). Ao serem infundidas, as CTMs por meio de sua ação angiogênica, dão origem a um processo de neovascularização contribuindo diretamente com o processo de reepitelização do tecido corneano. Transcorrida a cicatrização completa da ulceração, os vasos são reabsorvidos, devolvendo a transparência da córnea e restabelecendo suas funções normais. O tratamento consiste na aplicação de CTMs diretamente na ulceração (82).

CERATOCONJUTIVITE SECA

A ceratoconjutivite seca (KCS) é uma doença auto-imune caracterizada pela disfunção de um componente da unidade funcional lacrimal resultando na diminuição da porção aquosa da lágrima o que leva ao ressecamento e inflamação da córnea e da conjuntiva. Tal fato ocasiona nos animais sintomas de desconforto ocular, diminuição da acuidade visual, e instabilidade do filme lacrimal pré-corneano, com danos potenciais para a superfície ocular (80,83,84). Devido a baixa eficácia dos tratamentos atuais, constituído basicamente por

agentes anti-inflamatórios e imunossupressores que tendem a resultar em efeitos indesejados a longo prazo, além de ser ineficazes em alguns pacientes, a terapia com CTMs vem surgindo como uma promissora opção terapêutica para o tratamento da KCS tanto em cães como em gatos (85,86). Estudos tem demonstrado que o tratamento da KCS, por meio da implantação das CTMs na glandula lacrimal, é seguro e eficaz. As CTMs agem de forma imunomodulatória e anti-inflamatória nas glândulas lacrimais, por meio da liberação de moléculas bioativas. Estas aliadas ao processo de reparo da superfície ocular e das células epiteliais da glândula lacrimal por meio tanto pelas CTMs extrincicas como intrincicas, ocasiona uma melhora clinica significativa dos animais. Tal fato resulta na remoção dos medicamentos utilizados nas terapias convencionais assim como tornando as glândulas lacrimais novamente funcionais (86-89).

Em estudo realizado em 12 cães as CTMs alogênicas foram aplicadas diretamente na glândula lacrimal. Os resultados comprovaram que a utilização terapêutica das CTMs é segura não apresentando efeitos adversos tanto no momento da infusão como durante curtos e longos períodos após o tratamento. Os resultados apresentaram-se estatisticamente significativos com melhora da superfície ocular e produção de lágrimas demonstrando a recuperação funcional das glândulas lacrimais (86).

DOENÇA RENAL

A doença renal se caracteriza pelo comprometimento do metabolismo renal, de forma dinâmica e progressiva por períodos que variam de meses a anos, culminando na perda das funções fisiológicas dos rins (90). As terapias convencionais incluem principalmente a fluidoterapia, orientação dietética e diálise as quais visam prover uma melhora na qualidade de vida do animal (91). Entretanto, mesmo utilizando-se as terapias conservativas, a injúria estrutural tende a evoluir favorecendo a redução da massa renal e conseqüentemente a falência do órgão. Atualmente, o transplante renal, um procedimento pouco explorado na medicina veterinária, é no único método que favorece a melhora total do paciente (92). Embora os mecanismos que levem as CTMs a atuarem de forma protetora na lesão renal ainda não tenham sido esclarecidos, tem sido demonstrado que as CTMs são responsáveis pela mediação da angiogêneses, supressão da inflamação e melhora da função renal por meio da ação parácrina e endócrina (93).

Na literatura existem poucos trabalhos publicados relacionados a utilização terapêutica das CTMs no tratamento de DR. Embora a segurança e eficácia envolvendo o processo de infusão das CTMs tenha sido comprovado em felinos acometidos pela DR, não foram relatados até o momento, resultados equivalentes ao obtidos em ratos (94-98).

DERMATOLOGIA

Os danos dermatológicos derivados de traumas e isquemias tem sido alvo das CTMs de maneira bastante promissora (99). As CTMs são utilizadas por meio de injeções diretas na lesão ou após serem cultivadas em um aparato, engenharia de tecidos. Por meio do efeito parácrino, as CTMs tendem a estimular tipos celulares como os queratinócitos e células progenitoras a atuarem de forma a reparar as injurias ocorridas na pele. Dentre as diversas utilizações dermatológicas da terapia com CTMs temos as cirurgias reconstrutivas, os bloqueios, resolução de cicatrizes e a regeneração da pele (100).

No que tange a atopia, embora bastante promissora, existem poucos trabalhos publicados. Em estudo realizado em cães as CTMs autólogas isoladas a partir de tecido adiposo foram infundidas pela via endovenosa. Os dados obtidos não apresentaram resultados significativos (101). Entretanto, a utilização da CTMs continua a ser uma perspectiva promissora para o tratamento da atopia uma vez que fontes, quantidades e origem, autóloga ou alogênica, dentre outros fatores podem influenciar nos resultados.

DOENÇA INFLAMATÓRIA DO TRATO INTESTINAL

A Doença inflamatória do trato intestinal (DITI) em cães e gatos inclui diversas variantes histopatológicas (102). Devido as características singulares das CTMs, em especial a anti-inflamatória, as CTMs surgem como uma abordagem terapêutica em potencial para no tratamento de lesões inflamatórias do trato intestinal de cães e gatos.

Estudo realizado em 12 cães, CTMs alogênicas foram infundidas, pela via endovenosa. Os animais foram monitorados, durante o período de 42 dias após a aplicação, por meio de exames laboratoriais e clínicos incluindo observações do proprietário acerca do comportamento, apetite, consistência e frequência das fezes, vômitos e prurido. Foram

detectadas melhoras significativas nos valores clínicos e laboratoriais quando comparados aos dados iniciais. A análise microscópica constatou a melhora das lesões gastrointestinais e a histopatológicas comprovando a redução do processo inflamatório (103,104). Em felinos, foi realizado estudo randomizado que levou em consideração a idade, condições corpóreas, peso e densidade fecal. Não foram realizadas alterações na dieta, suplemento ou administração de medicamentos durante o estudo. A terapia com CTMs se mostrou segura pois nenhum dos animais apresentou algum tipo de reação ou efeitos secundários. Sete animais foram tratados com CTMs alogênicas e quatro com placebo. Os felinos foram analisados durante o período de dois meses. Dentre os gatos tratados, cinco apresentaram uma melhora clínica consistente ou resolução completa dos sinais clínicos enquanto dois animais apresentaram uma melhora modesta, porém persistente. Os felinos tratados com placebo não apresentaram alterações nos sinais clínicos (105).

CARDIOMIOPATIA

Dentre as doenças cardíacas não isquêmicas em cães e gatos as de maior incidência são cardiomiopatia hipertrófica (CMH) e cardiomiopatia dilatada canina (CMD), prolapso da valva mitral (MVP) e a displasia ventricular direita arritmogênica / cardiomiopatia. A terapia com CTMs têm sido vista como uma promissora metodologia para que possa se substituir o músculo cardíaco danificado ou perdido por tecido saudável e, assim, melhorar a qualidade de vida e sobrevivência em animais acometidos por diferentes cardiomiopatias (106).

A cardiomiopatia dilatada, caracterizada por fibrose intersticial irregular, cardiomiócitos degenerados e dilatação das câmaras cardíacas. É a insuficiência não isquêmica de maior frequência sendo o mecanismo causal, na maioria dos casos, desconhecido. Estudo realizado em 15 Dobermanns com CMD as CTMs alogênicas foram infundadas pela via endovenosa sendo os animais acompanhados por 2 anos com eletrocardiogramas (ECG), ecocardiogramas e Holter. Os resultados demonstraram que embora a via de administração seja segura e eficaz não foram observadas vantagens em comparação com dados de sobrevivência recentemente publicados em Dobermanns afetados de forma semelhante (107).

CONCLUSÃO

Esta revisão demonstrou que a terapia com CTMs é segura e eficaz podendo ser aplicada de forma satisfatória no tratamento de diversas doenças que acometem os animais. Estudos envolvendo diversas outras doenças vem sendo realizados de forma a determinar a viabilidade desta nova abordagem terapêutica. Desta forma, uma nova metodologia passa a estar a disposição do médico veterinário no que tange a assistência clínica ao seu paciente.

REFERÊNCIAS

- 1 - CARCIOFI A.C.; Jeremias J.T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, vol.39 supl.spe, Julio 2010.
- 2 - SHARP, B. Feline physiotherapy and rehabilitation: principles and potential. Journal Feline Medicine Surgery, 14(9):622-32, September 2012.
- 3 - BARBOSA, B.C.R. Melhora da qualidade de vida do paciente idoso com osteoartrose pela acupuntura. Brasília, Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.
- 4 - MARINO C.L., et. al. Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies. Journal Feline Medicine Surgery, 16(6):465-72, June 2014.
- 5 - BROWN C.A., et.al. Brown SA. Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses. Veterinary Pathology, 53(2):309-26, March 2016.
- 6 - MATHIE R.T.,et. al. Homeopathic prescribing for chronic conditions in feline and canine veterinary practice. Homeopathy, 99(4):243-8, October 2010.
- 7 - TEIXEIRA L.R., et. AL. Comparison of intrarectal ozone, ozone administered in acupoints and meloxicam for postoperative analgesia in bitches undergoing ovariohysterectomy.

Veterinary Journal, 197(3):794-9, September 2013.

8 - BUDGIN J.B., et. al. Flaherty MJ. Alternative therapies in veterinary dermatology. *Veterinary Clinical North American Small Animal Practice*, 43(1):189-204, January 2013

9 - CARRADE D.D., et. al. Immunomodulation by mesenchymal stem cells in veterinary species. *Comp Medicine*, 63(3):207-17, June 2013.

10 - LOPEZ M.J., et. al. State of the art: stem cells in equine regenerative medicine. *Equine Veterinary Journal*. 47(2):145-54, March 2015.

11 - SWIJNENBURG R.J., et. al. In vivo imaging of embryonic stem cells reveals patterns of survival and immune rejection following transplantation. *Stem Cells Development*, 17(6):1023-9, December 2008.

12 - ZHANG G, et. al. Mouse Clone Model for evaluating the immunogenicity and tumorigenicity of pluripotent stem cells. *Stem Cell Research Therapy*, 18, 6:255, December 2015.

13 - IVANOVA NB, et. al. A stem cell molecular signature. *Science*, 298: 601-604, 2002;.

14 - MOIGNARD V., et. al. Characterization of transcriptional networks in blood stem and progenitor cells using high-throughput single-cell gene expression analysis. *Natural Cell Biology*, 15: 363-372, 2013.

15 - NG AP, et. al. Haematopoietic stem cells: past, present and future. *Cell Death Discovery*, 6;3:17002, February 2017.

16 - MEIRELLES L.S., et. al. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Review*, 20:419-427, 2009.

17 - PERONI J.F., et. al. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stem cells. *Veterinary Clinical North American Equine Practice*, 27:351-362, 2011.

18 - SORDI V, et. al. Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of

functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets. *Blood*, 106(2):419-27, Jul 2005.

19 - VALTIERI M., et. al. The mesenchymal stromal cell contribution to homeostasis. *Journal Cell Physiology*, 217(2):296-300, November 2008.

20 - SMITH R.K.W., et. al. Harnessing the stem cell for the treatment of tendon injuries: heralding a new dawn? *Brazilian Journal Sports Medicine*, 39;582-584, 2005.

21 - FRIMBERGER A.E., et. al. A combination chemotherapy protocol with dose intensification and autologous bone marrow transplant (VELCAP-HDC) for canine lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 355-64, 2006.

22 - KADIYALA S., et. al. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplantation*, 6(2):125-34, Mar-April 1997.

23 - PITTINGER M.F., et. al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284, 143-7, 1999.

24 - MARTIN D.R., et. al. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow. *Experimental Hematology*, 30(8):879-86, August 2002.

25 - VARMA M.J., et. al. Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells Development*, 16(1):91-104, February 2007.

26 - KADNER A., et. al. Human umbilical cord cells: a new cell source for cardiovascular tissue engineering. *Ann Thorac Surg*, 74(4):S1422-8, 2002.

27 - CAN A., et. al. Human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. *Stem Cells*, 25(11):2886-95, 2007.

28 - ROMANOV Y.A., et. al. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*, 21(1):105-10, 2003.

- 29 - KADIVAR M., et. al. In vitro cardiomyogenic potential of human umbilical vein-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 10;340(2):639-47, 2005.
- 30 - SARUGASER R., et. al. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors. *Stem Cells*, 23(2):220-9, 2005.
- 31 - LU L.L., et. al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*, 91(8):1017-26, 2006.
- 32 - SEO M.S., et. al. Isolation and characterization of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Journal Veterinary Science*, 10(3):181-7, 2009.
- 33 - VARMA M.J.O., et. al. Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells. Meeting of the International-Fat-Applied-Technology-Society (IFATS), Pp 91-104. Mary Ann Liebert Inc, Charlottesville, VA, 2005
- 34 - RIORDAN N.H., et. al. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *Journal Transl Medicine*, 24;7:29, 2009.
- 35 - CRISAN M., et. al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 11;3(3):301-13, 2008.
- 36 - CRISAN M., et. al. Purification and long-term culture of multipotent progenitor cells affiliated with the walls of human blood vessels: myoendothelial cells and pericytes. *Methods Cell Biology*, 86:295-309, 2008.
- 37 - TALLONE T., et. al. Adult human adipose tissue contains several types of multipotent cells. *J Cardiovasc Transl Research*, 4(2):200-10, 2011.
- 38 - VIDAL M.A., Kilroy GE, Lopez MJ, Johnson JR, Moore RM, Gimble JM. Characterization of equine adipose tissue-derived stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity and comparison with bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Veterinary Surgery* 36, 613-22, 2007.

- 39 - GUADIX J.A., et. al. Characteristics, applications and prospects of mesenchymal stem cells in cell therapy. *Medicine Clinical (Barc)*. 2017.
- 40 - The STEPS Participants. Stem Cells Therapies as an Emerging Paradigm In Stroke (STEMPS): bridging basic and clinica science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke. *40:510-515*, 2009.
- 41 - LI L., et. al. A role for Gcn5 in cardiomyocyte differentiation of rat mesenchymal stem cells. *Molecular Cell Biochemi*, 345(1-2):309-16, 2010.
- 42 - XU Y.Q., et. al. Therapeutic potential of adult bone marrow stem cells in liver disease and delivery approaches. *Stem Cell Rev. Summer;4(2):101-12*, 2008..
- 43 - TRZIL J.E., et. al. Intravenous adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for the treatment of feline asthma: a pilot study. *J Feline Med Surg*. 17 de Setembro de 2015.
- 44 - QUIMBY J.M., et. al. Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *J Feline Med Surg*. 18(2):165-71, 2016;.
- 45 - TÖGEL F., et. al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am Journal Physiol Renal Physiology*, 289(1):31-42, 2005.
- 46 - CHEN Y.T., et. al. Adipose-derived mesenchymal stem cell protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *Journal Transl Medicine*, 5;9:51, 2011.
- 47 - MOLL G., et. al. Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood? *Stem Cells*, 30(7):1565-74, 2012.
- 48 - BARBASH I.M., et. al. Systemic delivery of bone marrowderived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation*, 108(7):863-8, 2003.

- 49 - Dib N, Khawaja H, Varner S, McCarthy M, Campbell A. Cell therapy for cardiovascular disease: a comparison of methods of delivery. *J Cardiovasc Transl Res.* 2011 Apr;4(2):177-81
- 50 - BLACK L.L., et. al. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Veterinary Therapeutics* 8, 272-84, 2007.
- 51 - BLACK L.L., et. al. Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Veterinary Therapeutics* 9, 192-200, 2008.
- 52 - BELLAMY N. Hyaluronic acid and knee osteoarthritis. *J Fam Pract*, 55(11):967-8, 2006.
- 53 - LAFLAMME D.P. Nutritional care for aging cats and dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 42(4):769-91, vii, 2012.
- 54 - LAFLAMME D.P. Companion Animals Symposium: Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? *Journal Animal Science*, 90(5):1653-62, 2012.
- 55 - MAHEU E., et. al. Efficacy and safety of hyaluronic acid in the management of osteoarthritis: Evidence from real-life setting trials and surveys. *Semin Arthritis Rheum*, 45(4 Suppl):S28-33, 2016.
- 56 - BURKE J., et. al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell based therapy for osteoarthritis. *Clin Transl Medicine*, 5(1):27, 2016.
- 57 - AFIZAH H., et. al. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis. - *J Clin Orthop Trauma*, 7(3):177-82, 2016.
- 58 - CUCCHIARINI M., et. al. Basic science of osteoarthritis. *Journal Exp Orthop.* 3(1):22, 2016.
- 59 - FREITAG J., et. al. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: reparative pathways, safety and efficacy. *BMC Musculoskelet Disord*, 26;17:230, 2016.

60 - CUERVO B., et. al. Hip osteoarthritis in dogs: a randomized study using mesenchymal stem cells from adipose tissue and plasma rich in growth factors. *International Journal Molecular in Science*, 15(8):13437-60, 2014.

61 - YUN S., et. al. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs. *J Orthop Surg Research* 11:9, 2016 Jan 15.

62 - HERRERO C., et. al. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells. *Braz J Med Biol Research*, 43:425-430, 2010;.

63 - SMITH R.K., et. al. Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment. *Equine Veterinary Journal*, 35:99-102, 2003.

64 - EDMONDS R.E., et. al. Influence of commonly used pharmaceutical agents on equine bone marrow-derived mesenchymal stem cell viability. *Equine Veterinary Journal*, 2016.

65 - BREHM W., et. al. Stem cell-based tissue engineering in veterinary orthopaedics. *Cell Tissue Research*, 347:677-688, 2012.

66 - SMITH R., et. al. Effectiveness of bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells for naturally occurring tendinopathy in the horse. *Regen Medicine*, 4:S25-26, 2009.

67 - LEPPANEN M., et al. Management of equine tendon & ligament injuries with expanded autologous adipose-derived mesenchymal stem cells: a clinical study, *Regen Medicine*, 4:S21, 2009b.

68 - RAHAMAN M.N., et. al. Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine. *Biotechnol Bioeng*, 91(3):261-84, 2005.

69 - CHEN H., et. al. Combination of local and systemic parathyroid hormone enhances bone regeneration. *Clin Orthop Relat Research*, (416):291-302, 2003.

70 - ZAMPROGNO H. Células tronco esqueléticas para o tratamento da não união de fraturas.

Acta Scientiae Veterinaria, 35(Supl 2): s289-s290, 2007.

71 - PENHA E.M., et al. Use of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow for the treatment of naturally injured spinal cord in dogs. *Stem Cells Int* 2014:437521, 2014.

72 - SARMENTO C.A., et. al. Pilot study: Bone marrow stem cells as a treatment for dogs with chronic spinal cord injury. *Regen Med Research* 2:9, 2014.

73 - KIM Y., et. al. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs. *J Vet Science*, 17:123-126, 2016.

74 - MORAES, L.F.; et. al. Aplasia medular em cães. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Santa Catarina, 9(1):99-108, 2010.

75 - GATTI A., et. al. Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação, 12(41), 296-303, 2014.

76 - SHERDING R.G. Cinomose canina. In: BIRCHARD SJ, SHERDING RG (Eds.). *Manual Sauders de clínica de pequenos animais*. 3 ed. São Paulo: Roca, p. 158-62, 2008.

77 - BRITO H.F.V., et. al. Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação, 8(24); 26-29, 2010.

78 - GELATT, K.N. *Veterinary ophthalmology*. Philadelphia: Lea & Febinger, p. 765, 1991.

79 - STADES, C.F. et al. *Fundamentos de oftalmologia veterinária*. São Paulo: Manole, p.203, 1999..

80 - LAUS, J.L.; et. al. Doenças corneanas em pequenos animais. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP. I CotlirluOUS Educa/íon latimo! CRMV-SP*. São Paulo, volume 2. fascículo I. p. 26 - 33, 1999.

81 - SANGWAN, V.S. Limbal stem cells in health and disease. *Bioscience Reports*, v.21, n.4, p.385-405, 2001.

82 - TAKÁCS L., et. al. Stem cells of the adult cornea: from cytometric markers to therapeutic applications. *Cytometry A*. 75(1):54-66, 2009.

83 - BARNET K.C., et. al. Dry eye in the dog and its treatment. *Transactions of the Ophthalmological societies of the United Kingdom*. 104: 462-466, 1985.

84 - BAI L., et. al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis. *Glia.*, 57:1192-1203, 2009.

85 - Barachetti L., et. al. Use of episcleral cyclosporine implants in dogs with keratoconjunctivitis sicca: pilot study, *Veterinary Ophthalmology*, 2014.

86 - VILLATORO A.J., et. al. Use of adipose-derived mesenchymal stem cells in keratoconjunctivitis sicca in a canine model. *Biomed Res Int.*, 2015:527926, 2015.

87 - XU J., et. al. Allogeneic mesenchymal stem cell treatment alleviates experimental and clinical Sjogren syndrome. *Blood*, vol. 120, no. 15, pp. 3142-3151, 2012.

88 - STEVENSON, W., et. al. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder," *Archives of Ophthalmology*, vol. 130, no. 1, pp. 90-100, 2012.

89 - PARK S.A., et. al. Safety and immunomodulatory effects of allogeneic canine adipose-derived mesenchymal stromal cells transplanted into the region of the lacrimal gland, the gland of the third eyelid and the knee joint. *Cytherapy*, 15(12):1498-510, 2013.

90 - PRESSLER B.M., Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Practice*, 43(6):1193-208, 2013.

See comment in PubMed Commons below

91 - QUIMBY J.M., et. al. Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *J Feline Med Surg.*, 18(2):165-71, 2016.

- 92 - HOPPER K., et. al. Outcome after renal transplantation in 26 dogs. *Vet Surg.*, 41(3):316-27, 2012.
- 93 - BUSSOLATI B., et. al. Contribution of stem cells to kidney repair. *Am J Nephrology*, 28(5):813-22, 2008.
- 94 - SEMEDO P., et. al. Mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis through immune modulation and remodeling properties in a rat remnant kidney model. *Stem Cells*. 27(12):3063-73, 2009.
- 95 - SEMEDO P., et. al. Early modulation of inflammation by mesenchymal stem cell after acute kidney injury. *Int Immunopharmacology*, 9(6):677-82, 2009.
- 96 - QUIMBY J.M., et. al. Evaluation of intrarenal mesenchymal stem cell injection for treatment of chronic kidney disease in cats: a pilot study. *J Feline Med Surg.*,13(6):418-26 2011.
- 97 - QUIMBY J.M., et. al. Safety and efficacy of intravenous infusion of allogeneic cryopreserved mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: results of three sequential pilot studies. *Stem Cell Res Ther.* 2013 Apr 30;4(2):48.
- 98 - QUIMBY J.M., et. al. Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *J Feline Med Surg.*, 18(2):165-71, 2016.
- 99 - MAXSON S., et. al. Role of Mesenchymal Stem Cells In Wound Repair. *Stem Cells Translational medicine*, 1:142-149, 2012.
- 100 - HARMAN R.J. Stem cell therapy in veterinary dermatology. *Vet Dermatology*, 24(1):90-6.e23-4, 2013.
- 101 - HALL M.N., et. al. Evaluation of the potential use of adipose-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of canine atopic dermatitis: a pilot study. *Veterinary Therapy.*, 11(2):E1-14, 2010.

102 - WASHABAU R.J., et. al. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. *J Vet Intern Medicine*, 24:10-26, 2010.

103 - PEREZ-MERINO E.M., et. al. Safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for treatment of dogs with inflammatory bowel disease: Endoscopic and histological outcomes. *Veterinary Journal*, 206:391-397, 2016.

104 - PEREZ-MERINO E.M., et. al. Safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for treatment of dogs with inflammatory bowel disease: Clinical and laboratory outcomes. *Veterinary Journal*, 206:385-390, 2015.

105 - WEBB T.L., et. al. Stem cell therapy in cats with chronic enteropathy: A proof-of-concept study. *J Feline Med Surgery*, 17:901-908, 2015.

106 - GANDOLFI F., et. al. Large animal models for cardiac stem cell therapies. *Theriogenology*, 75(8):1416-25, 2011.

107 - POGUE B., et. al. Stem-cell therapy for dilated cardiomyopathy: a pilot study evaluating retrograde coronary venous delivery. *Journal of Small Animal in Practice*, 54(7):361-6, 2013.

[1] Biocientista. Mestre, Doutor, Pós-Doutor.