

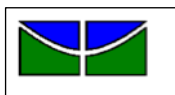


UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS
NO TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS
DECORRENTES DA CINOMOSE:
revisão de literatura

Arthur Santana de Almeida
Orientador(a): Profa. Dra. Simone Perecmanis

BRASÍLIA-DF
ABRIL DE 2022



ARTHUR SANTANA DE ALMEIDA

**UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS
NO TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS
DECORRENTES DA CINMOSE:
revisão de literatura**

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária
da Universidade de Brasília

Orientador (a): Profa. Dra. Simone Perecmanis

BRASÍLIA-DF
ABRIL DE 2022

SA447uu Santana de Almeida, Arthur
Utilização de células tronco mesenquimais no tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose: revisão de literatura / Arthur Santana de Almeida; orientador Simone Perecmanis. -- Brasília, 2022.
32 p.

Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) --
Universidade de Brasília, 2022.

1. cinomose canina. 2. células tronco. 3. sequelas neurológicas. 4. canine distemper. I. Perecmanis, Simone, orient. II. Título.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Arthur Santana de Almeida

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Utilização de células tronco mesenquimais no tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose: revisão de literatura.

Ano: 2022

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Arthur Santana de Almeida

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: Almeida, Arthur Santana de

Título: Utilização de células tronco mesenquimais no tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose: revisão de literatura

Trabalho de conclusão do curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Aprovado em 02/05/22

Prof. Orientadora Simone Perecmanis

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família e amigos que acompanharam meu processo dentro da universidade desde o início até o fim, em especial à minha mãe e irmão, cujo apoio em momentos bons e ruins foi fundamental para me levar onde estou hoje.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a minha família e amigos pelo apoio, momentos de risada e descontração ao longo da minha jornada.

Ao pessoal daqui de casa por me aturar e ajudar nos momentos de stress com provas e trabalhos, eu sei que não foi fácil.

Aos meus amigos por todos os momentos bons e ruins em que eles se mantiveram ao meu lado, seja na loucura de final de semestre ou nos bares da vida.

A minha namorada por me incentivar, animar, por sempre acreditar na minha capacidade, mesmo nos momentos mais complicados e por ser essa companheira maravilhosa.

Aos professores da FAV por todos os ensinamentos passados durante esses anos.

A toda equipe do HVET-UNB, em especial os residentes do ano de 2022 pelos ensinamentos e pela amizade.

E a todas as pessoas que passaram em minha vida e contribuíram de alguma forma com meu crescimento pessoal e profissional.

Sumário

1. 1 Vírus da Cinomose:	1
1.2 etiologia	2
1.3 Patogenia:	3
1.3.1 infecção sistêmica:	3
1.3.2 Infecção do sistema nervoso central:	5
1.4 Epidemiologia:	8
1.5 Aspectos clínicos:	8
1. 6 Diagnóstico	10
1. 7 Tratamento	11
2 Células Tronco:	12
2.1 Obtenção e cultura das CTM	14
2.2 Ação das células tronco no sistema nervoso central:	14
3. Uso de células tronco mesenquimais no tratamento de sequelas neurológicas da cinomose canina	16
Conclusão:	18
Bibliografia:	19

Lista de abreviações:

VC: vírus da cinomose

SNC: sistema nervoso central

SLAM: *signaling lymphocyte activation molecule*

PI: Pós infecção

DMSO: Dimetil-sulfóxido

IL-8: interleucina-8

CHP: complexo de histocompatibilidade principal

IFN- γ : interferon gama

IL-1: interleucina-1

ECl: encefalite do cão idoso

RT-PCR: transcriptase reversa da reação em cadeia da polimerase

MO: Medula óssea

CTE: Células tronco embrionárias

CTA: Células tronco adultas

CTM: Células tronco mesenquimais

NGF: *nerve growth factor*

BDNF: *brain-derived neurotrophic factor*

TGF- β : *transforming growth factor β*

Resumo

O vírus da cinomose é um *Morbilivirus* pertencente à família *Paramyxoviridae* responsável por uma afecção grave que acarreta em uma alta mortalidade, perdendo apenas para a raiva. O grupo mais afetado pelo vírus são animais jovens, que não receberam o colostro ou não vacinados. Cães acometidos podem apresentar sintomas multissistêmicos, como gastroentéricos, respiratórios, oculares e neurológicos além de queda na imunidade acentuada. Os animais que possuem imunidade moderada desenvolvem um quadro neurológico que persiste pelo resto da vida. Nesse sentido, a terapia celular utilizando células tronco mesenquimais foi proposta na tentativa de amenizar as sequelas causadas pela doença, devido ao seu fácil isolamento, cultivo e propriedades regenerativas. As células tronco possuem a capacidade de migrar aos locais de inflamação semelhante a de células responsáveis pela resposta inflamatória, tornando viável sua aplicação tanto no local da lesão, pela via intratecal, como pela via endovenosa. A ação parácrina e autócrina das células promove neurogênese, sinaptogênese, arborização dendrítica, neuroproteção, angiogênese, imunomodulação através da secreção de citocinas no local da lesão, reduzindo a resposta inflamatória e induzindo as células locais a iniciarem o processo de reparação tecidual. Sendo assim, a utilização das CTM torna-se um método viável, demonstrado por vários estudos, para o tratamento das sequelas neurológicas da cinomose.

Palavras-chave: cinomose canina, células tronco, sequelas neurológicas, canine distemper

Abstract

The distemper virus is a morbillivirus belonging to the paramyxoviridae family responsible for a serious disease that causes a high mortality, second only to rabies. The group most affected by the virus are young animals, which have not received colostrum or have not been vaccinated. Affected dogs may present with multisystem symptoms, such as gastroenteric, respiratory, ocular and neurological symptoms, in addition to a marked decrease in immunity. Animals that have moderate immunity develop a neurological condition that persists for the rest of their lives. In this sense, cell therapy using mesenchymal stem cells was proposed in an attempt to alleviate the sequelae caused by the disease, due to its easy isolation, cultivation and regenerative properties. Stem cells have the ability to migrate to sites of inflammation similar to cells responsible for the inflammatory response, making their application feasible both at the site of injury, via intrathecal and intravenous routes. The paracrine and autocrine action of cells promotes neurogenesis, synaptogenesis, dendritic arborization, neuroprotection, angiogenesis, immunomodulation through the secretion of cytokines at the injury site, reducing the inflammatory response and inducing local cells to initiate the tissue repair process. Therefore, the use of MSCs becomes a viable method, demonstrated by several studies, for the treatment of the neurological sequelae of distemper.

Keywords: cinomose canina, células tronco, sequelas neurológicas, canine distemper

Revisão bibliográfica:

1. 1 Vírus da Cinomose:

O vírus da cinomose (VC) é um *Morbilivírus* pertencente à família *Paramyxoviridae*, de distribuição mundial, composto por um único filamento de RNA de sentido negativo, envolto em um nucleocapsídeo de simetria helicoidal, sendo circundado por um envelope lipoproteico derivado da membrana celular, que contem as glicoproteínas virais H (proteína de inserção) e F (proteína de fusão). A expressão de tais glicoproteínas na membrana celular causa uma citólise imunomediada, além de ter capacidade imunossupressora devido a sua ligação seletiva com a molécula sinalizadora da ativação de linfócitos (SLAM [*signaling lymphocyte activation molecule*, do inglês] ou CD 150) principalmente em linfócitos TCD4+, interferindo na resposta imune do hospedeiro. (GREENE, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008; VANDEVELDE; ZURBRIGGEN, 2005)

No cérebro do cão, a replicação viral pode ser amplificada devido a uma suprarregulação da SLAM nas células imunes, que infiltram o sistema nervoso central (SNC) em resposta a infecção aguda pelo VC. Além disso, cepas mais virulentas como a Snyder Hill, A75/17 e R252 são capazes de induzir uma infecção intracelular persistente crônica nesse tecido ao induzir citólise e fusão entre as células neurais (GREENE, 2015).

A gravidade, extensão e evolução do quadro da doença são definidas pela cepa infectante, condições do ambiente e estado imune do animal. Um alto tropismo por células neurais aliado a um resposta imune falha pode causar desde desmielinização até polioencefalomielite severa. O vírus se replica em tecidos linfoides, nervoso e epitelial, sendo excretado nas fezes, saliva, urina e nos exsudatos respiratório e conjuntival por 60 a 90 dias após infecção natural (PORTELA; LIMA; MAIA, 2017; NELSON; GREENE, 2015; COUTO, 2015).

O vírus da cinomose é suscetível à radiação ultravioleta e extremamente sensível ao calor e ressecamento, sendo destruído por temperaturas acima de 50 a 60 °C em 30 minutos. Em climas quentes, o VC não persiste no ambiente por muito tempo, permanecendo viável em tecidos excisados ou secreções por pelo menos 1h a 37°C e por até 3h a 20°C. Em contrapartida, o vírus permanece viável em ambientes frios, com temperaturas próximas ao

congelamento, por semanas e 7 anos em temperaturas de -65°C, explicando a maior incidência da doença nos períodos frios do ano (GREENE, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008).

Assim como outros vírus envelopados, o VC é suscetível ao éter e ao clorofórmio, soluções diluídas de formol, ao fenol e desinfetantes a base de amônio. Sendo assim, procedimentos de desinfecção no geral são eficazes no controle do VC em canis e hospitais, não sendo necessário realizar vazios sanitários para seu controle (NARDO, 2018; GREENE, 2015).

1.2 etiologia

A pesar dos cães domésticos serem os principais hospedeiros do vírus, outros carnívoros podem se infectar, tais como coioote, dingo, guaxinin (*canidae*), panda-vermelho (*Ailuridae*), furão, lontra (*Mustelidae*), gambá (*Mephitidae*), leão, onça e jaguatirica (*felidae*), atuando como reservatórios naturais no meio silvestre (GREENE, 2015).

Com o passar dos anos, o número de espécies hospedeiras têm aumentado consideravelmente conforme transmissões virais interespecies e recombinações virais foram ocorrendo, gerando surtos epizoóticos com mortalidade elevada. Gatos e suínos são considerados susceptíveis a doença, porém, sem manifestação clínica. Existem ainda relatos de infecção natural em primatas não humanos do velho mundo (*Macaca fuscata* e *Macaca mulatta*). Este fato pode ser explicado por uma possível mutação no gene da hemaglutinina (PORTELA et al., 2017; GREENE, 2015).

O gene da hemaglutinina transcreve a glicoproteína H no envelope lipoproteico viral. Esta, juntamente com a glicoproteína F, é responsável pela inserção do mesmo na célula hospedeira através da ligação seletiva a molécula SLAM, desencadeando a imunossupressão nos animais acometidos. Sendo assim, este gene tem sido o foco de estudos filogenéticos, moleculares e epidemiológicos importantes que envolvem o VC (PORTELA et al., 2017; GREENE, 2015).

1.3 Patogenia:

1.3.1 infecção sistêmica:

Cerca de 24h pós infecção (PI), o vírus se multiplica nos macrófagos teciduais e dissemina-se nessas células através dos linfócitos locais, sendo levado às tonsilas e linfonodos faríngeos e brônquicos via circulação linfática, local onde ocorre a replicação viral primária. (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Nos primeiros 2 a 4 dias PI, ocorre um aumento na carga viral nas tonsilas e linfonodos retrofaríngeos e brônquicos, entretanto, o número de vírus presentes em outras células mononucleares encontradas em outros órgãos linfoides tende a diminuir nesse período. (GREENE, 2015).

A multiplicação viral nos folículos linfoides do baço, tecido linfático associado a lâmina própria do estômago e intestino delgado, linfonodos mesentéricos e células hepáticas de Kupffer ocorre do quarto ao sexto dia PI. Concomitantemente, ocorre uma leucopenia e pico febril entre o 3 e 6 dias PI devido a proliferação viral disseminada nos tecidos linfoides. A leucopenia se deve a uma linfopenia causada pelo dano viral as células B e T. Estudos demonstram ainda que o dano celular é mais acentuado e duradouro nos linfócitos TCD4+ que nos TCD8+, explicando a presença dos mesmos em lesões agudas do SNC (GREENE, 2015; VANDEVELDE; ZURBRIGGEN, 2005).

A imunossupressão causada nos animais está relacionada com a queda na produção da interleucina-1 (IL-1) pelos macrófagos e monócitos e no aumento da síntese da prostaglandina-E2 (PGE2), um agente imunossupressor que inibe a síntese das interleucina 2 e 12 e do interferon-gama (IFN- γ) pelos linfócitos Th1, diminuindo atividade monocítica de apresentação antigênica, que leva a uma queda na diferenciação dos linfócitos B, formação de plasmócitos e produção de imunoglobulinas no organismo do animal (NARDO, 2018)

Acredita-se que a via hematogena seja a responsável pela disseminação do vírus para os tecidos nervoso e epitelial. Macrófagos infectados seguem de volta ao coração via linfáticos, onde entram na circulação sistêmica como uma viremia associada a células mononucleares, ocorrendo entre o oitavo e nono dias PI, período esse que corresponde ao início da eliminação viral em todas

as secreções do corpo, mesmo em animais com infecções subclínicas (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

A magnitude das alterações clínicas, bem como os tecidos afetados dependem da cepa e do estado imune do animal. Cães não vacinados previamente são suscetíveis a doença em qualquer estágio da vida, entretanto, existe uma maior prevalência em filhotes entre 3 e 6 meses de idade, período que corresponde a queda de anticorpos maternos adquiridos através do colostro (NELSON; COUTO, 2015).

Animais imunossuprimidos apresentam uma disseminação viral para vários tecidos, incluindo pele, glândulas exócrinas e endócrinas e para os epitélios dos tratos respiratório, geniturinário e gastrointestinal por volta de 9 a 14 dias PI. Os sinais clínicos nesses pacientes são acentuados e graves, ocasionando uma doença polissistêmica fatal. O vírus permanece viável nesses indivíduos até a morte. A sequência de eventos patogênicos dependerá da cepa infectante, com duração de uma a duas semanas (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Em pacientes com imunidade moderada, o vírus se replica nos tecidos epiteliais por volta de 9 a 14 dias PI, quando os sintomas clínicos são observados. A doença pode se resolver a medida que a titulação de anticorpos aumenta e o vírus é eliminado da maioria dos tecidos. Entretanto, o VC pode permanecer por longos períodos nos tecidos e neurônios uveais, além dos tecidos tegumentares, como os coxins plantares (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

O anticorpo IgG específico do VC é eficaz em neutralizar o vírus extracelular e inibir sua disseminação intercelular. Sendo assim, por volta dos 14 dias PI, animais com titulações de anticorpo anti-VC adequados e citotoxicidade mediada por células eliminam o vírus da maioria dos tecidos infectados, não apresentando manifestação clínica da doença (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Grande parte dos animais infectados desenvolve a infecção no SNC, entretanto, os sinais neurológicos da doença irão se manifestar em animais com baixa ou nenhuma proteção imune (NELSON; COUTO, 2015).

1.3.2 Infecção do sistema nervoso central:

Segundo MANGIA e PAES (2008), foi sugerido por alguns estudos que a infecção no sistema nervoso central (SNC) pode ocorrer precocemente, durante a fase sistêmica da viremia. Este tipo de progressão se dá por uma falha do sistema imune.

O vírus associado a plaquetas ou células mononucleares adentra o parênquima cerebral através de vasos sanguíneos finos, depositando-se nos espaços perivasculares (de Virchow Robin), sendo detectado pela primeira vez em podócitos astrocíticos perivasculares e, em seguida, nos neurônios. Ademais, o vírus pode adentrar o SNC através da circulação sistêmica pelo plexo coróide do quarto ventrículo, se replicando nas células epiteliais do mesmo. Vírus livres ou associados a linfócitos podem entrar no líquido cefalorraquiano através do plexo infectado, onde se disseminam para estruturas periventriculares ou subpiais. Tal disseminação pode explicar lesões precoces em estruturas como os tratos do nervo óptico, o velo medular rostral os pedúnculos cerebelares e a medula espinhal (GREENE, 2015).

Uma via alternativa de entrada do vírus no sistema nervoso central através do nervo olfatório foi verificada em furões. Durante o período de alta viremia, o VC replica-se maciçamente no epitélio da mucosa respiratória, passando pela lâmina cribiforme, infectando os neurônios receptores olfatórios, posteriormente disseminando-se de maneira anterógrada às fibras do nervo olfatório. A partir desse ponto, ocorre uma disseminação viral no sentido caudal em direção a região do sistema límbico. Entretanto, essa via não foi demonstrada em cães, mas poderia explicar a polioencefalomalacia seletiva a estruturas rinencefálicas verificada em raros casos (GREENE, 2015; MANGIA; PAES, 2008)

A forma aguda da encefalite causada pelo VC caracteriza-se por lesão viral direta e multifocal nas substâncias branca e cinzenta do SNC, podendo causar desde desmielinização axonal a polioencefalomalacia. Como o vírus induz uma depleção linfóide, ocorre pouca ou nenhuma tumefação perivascular no início da doença clínica, entretanto um aumento de células CD8+, encontradas nas lesões desmielinizantes e difusamente ao longo do parênquima cerebral de cães acometidos pela cinomose, é observada em resposta a presença da proteína do nucleocapsídeo viral e ao aumento na

atividade da interleucina-8 (IL-8) (GREENE, 2015; MANGIA; PAES, 2008; VANDEVELDE; ZURBRIGGEN, 2005;).

O dano causado a substância cinzenta pelo VC resulta de uma infecção neuronal e necrose que pode provocar uma polioencefalomalacia. A desmielinização causada pelo vírus está relacionada com a replicação ativa do nucleocapsídeo viral nas células da micróglia e da astroglia, ao invés de células oligodendrogliais. Apesar de não se replicar diretamente nas células produtoras de mielina, o estudo demonstrou que a função dos oligodendrócitos foi prejudicada, possivelmente devido a uma disfunção metabólica e degeneração morfológica causada pela infecção restrita da transcrição viral sem tradução, resultando em uma infrarregulação da expressão gênica da mielina (DE NARDO, 2018; GREENE, 2015; MANGIA, PAES, 2008; VANDEVELDE; ZURBRIGGEN, 2005)

Foi demonstrado que além de ocorrer um aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias nos focos infectados, o complexo de histocompatibilidade principal (CHP) de classe II foi suprarregulado nesses locais e na substância branca do SNC, mesmo com o animal imunossuprimido, induzindo a micróglia a liberar radicais livres de oxigênio, causando uma degradação de fosfolípidos na região cortical, destruição da bainha de mielina e inibição de sua síntese, sugerindo que a resposta imune local pode amplificar a morte celular em decorrência do vírus (DE NARDO, 2018; GREENE, 2015; MANGIA, PAES, 2008; VANDEVELDE; ZURBRIGGEN, 2005).

A encefalite subaguda a crônica causada pela cinomose é caracterizada por uma redução na expressão do antígeno e do mRNA viral e forte resposta imune do hospedeiro, contrastando com a forma aguda da doença (GREENE, 2015).

Caso a replicação viral seja mais rápida que a resposta imune do animal, o vírus pode persistir na substância branca encefálica que não apresenta lesões inflamatórias desmielinizantes, ou periféricamente a estas. Esse mecanismo de persistência viral é responsável pela manifestação crônica da encefalite pelo VC (MANGIA; PAES, 2008)

A encefalite crônica inicialmente é caracterizada histologicamente por uma hiperplasia astrocitária, e proliferação microglial na substância branca, nas regiões subependimárias e subpiais e posteriormente pela presença de

manguitos perivasculares. Os animais que se recuperam da depleção linfóide tem um aumento significativo nas populações de linfócitos T e B, quando comparados a animais no curso agudo da infecção, resultando em infiltração perivascular por células mononucleares, gerando um processo imunopatológico que independe do vírus (GREENE, 2015; MANGIA e PAES, 2008).

O antígeno viral fica restrito a poucos astócitos, enquanto a expressão do CHP classe II e citocinas pró-inflamatórias por parte da micróglia é aumentado, sendo responsável pelo infiltrado perivascular. O infiltrado tem predomínio de células CD8+, porém, células B e TCD4+ estão presentes. Tais células interagem com macrófagos infectados nas lesões do SNC, que por sua vez, liberam radicais livres de oxigênio, responsáveis pela destruição de oligodendrócitos e mielina. (NARDO, 2018).

Uma alta concentração de anticorpos anti-mielina e células T sensibilizadas para a mesma está associada a essa forma da encefalite, entretanto, acredita-se que isso se deva a uma reação inflamatória secundária e não a evolução da doença, amplificando as lesões pré-existentes, mas não sendo a causa base do quadro (GREENE, 2015; MANGIA; PAES, 2008). Nessa fase, corpúsculos de inclusão virais intranucleares ou intracitoplasmáticos são detectados nos astrócito e em células da superfície ependimal (MANGIA; PAES, 2008).

A encefalite do cão idoso (ECI) atinge animais com mais de 6 anos, sendo uma doença inflamatória ativa e progressiva causada pela persistência viral no SNC após a infecção aguda pelo VC. Essa forma é caracterizada por uma lesão crônica na substância cinzenta dos hemisférios e tronco cerebral, em todo o córtex, núcleo basal, tálamo e hipotálamo, com presença de infiltração perivascular disseminada de células T e plasmócitos, proliferação difusa da microglia, astrogliose, degeneração neural, neurofagia, com resposta imune caracterizada principalmente pela suprarregulação da expressão do CHP (MANGIA; PAES, 2008)

A polioencefalite com corpúsculo de inclusão é uma variação que pode ocorrer após vacinação ou em cães com início súbito somente de manifestações neurológicas da cinomose. Sendo caracterizada por suprarregulação do CHP classe II, polioencefalite necrosante do tronco

cerebral caudal com predileção pelos núcleos pontinos ventrais, manguitos perivasculares e inclusões intracitoplasmáticas e intranucleares (GREENE, 2015).

1.4 Epidemiologia:

O VC dissemina-se através de aerossóis, gotículas infectantes de secreções e excreções corpóreas ou contato direto com o epitélio do trato respiratório superior de animais acometidos (PORTELA et al., 2017; GREENE, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008). Ambientes estressantes com alta densidade populacional, como canis, hospitais, clínicas e abrigos configuram um ambiente propício a disseminação viral (PORTELA et al., 2017).

Segundo GREENE (2015), uma transmissão transplacentária pode ocorrer em cadelas virêmicas. O período de gestação o qual se deu a infecção pode provocar aborto, nascimento de natimortos ou filhotes fracos. Os filhotes que se infectaram *in utero* podem desenvolver sinais neurológicos da doença durante as primeiras 4 a 6 semanas de vida, e caso sobrevivam a tal infecção, podem apresentar um quadro de imunodeficiência permanente em decorrência do dano as estruturas linfóides primordiais.

1.5 Aspectos clínicos:

A manifestação clínica da cinomose varia dependendo do estado imune do animal, idade, virulência da cepa infectante e condições ambientais, sendo categorizada em três formas, clínica, subclínica e crônica. Os sintomas mais comuns na doença são inespecíficos, variando entre sintomas respiratórios (secreção nasal, tosse, pneumonia), gastrointestinais (diarreia, vômito, anorexia), oftalmológicos (conjuntivite), cutâneos (pústulas, hiperqueratose de coxins e nariz) e neurológicos (incoordenação, ataxia, paresia, mioclonia), que podem ocorrer concomitantemente ou de forma isolada. Acredita-se que mais de 50% das infecções pelo VC se apresentem na forma subclínica da doença (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008).

A forma mais branda da doença ocorre em animais com imunidade parcial ao vírus, podendo apresentar discreta alteração respiratória, aumento de volume nos linfonodos submandibulares, febre, apatia, secreção ocular

mucopurulenta e broncopneumonia com chiados e sibilos (NELSON; COUTO, 2015).

A forma generalizada e grave da doença pode acometer cães em qualquer idade, entretanto, é mais comum em filhotes entre 3 a 4 meses de idade e em animais sem histórico de vacinação. Essa forma da doença apresenta evolução rápida, muitas vezes associada a infecções secundárias. O primeiro sintoma é uma conjuntivite serosa ou mucopurulenta discreta seguida por tosse seca de evolução rápida a húmida e produtiva, associada a infecção bacteriana secundária (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008).

Anorexia e depressão seguidas de vômitos são comuns. Em seguida ocorre um quadro diarreico com uma consistência que varia entre líquida a mucossanguinolenta, podendo ser seguida por tenesmo e intussuscepção, somando-se a adipsia causada pela doença, pode levar a um quadro grave de desidratação e emaciação. Muitas vezes, a febre inicial passa-se despercebida nesses casos (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015; VITTO; GABRIELLE; CANIO, 2008).

As alterações neurológicas possuem caráter invariavelmente progressivo, dependendo da área do SNC afetado e estado imune do animal, apresentando-se como hiperestesia, convulsões focais ou generalizadas, paresias, mioclonia, doença vestibular ou cerebelar. O prognóstico e a recuperação da infecção estão atrelados a gravidade do quadro neurológico do animal (GREENE, 2015, NELSON; COUTO, 2015, MANGIA, PAES, 2008;).

A encefalite aguda acomete normalmente animais jovens ou imunossuprimidos, sendo caracterizada por lesão viral multifocal direta nas substâncias branca e cinzenta do SNC, ocorrendo inicialmente no curso da infecção (NARDO, 2018, MANGIA; PAES, 2008).

A encefalite multifocal crônica se manifesta em animais de 4 a 6 anos de idade, não sendo necessariamente precedida ou coincidindo com o quadro sistêmico da cinomose. (NARDO, 2018, MANGIA; PAES, 2008)..

A encefalite do cão idoso (ECI) é uma doença inflamatória, progressiva e crônica relacionada ao VC, acometendo animais imunocompetentes, com mais de 6 anos que possuem uma persistência viral no SNC em forma de replicação defeituosa. Os sinais clínicos mais comuns são andar em círculos, pressionar a

cabeça contra a parede e dificuldade visual (NARDO, 2018; GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015; MANGIA; PAES, 2008).

1. 6 Diagnóstico

Na rotina clínica, o diagnóstico da cinomose se dá pelo histórico clínico do animal. A não ingestão de colostro ou não vacinação, para filhotes entre 3 e 6 meses de idade, apresentando sintomatologia compatível com a cinomose é geralmente suficiente para confirmar a suspeita. O quadro generalizado grave possui sinais clínicos distintos o suficiente para estabelecer um diagnóstico presuntivo, entretanto, a sintomatologia respiratória em animais mais velhos pode ser confundida com outras doenças respiratórias (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Os exames de rotina clínica também possuem relevância na confirmação da suspeita. A linfopenia e trombocitopenia discretas são achados consistentes no hemograma. Pleocitose mononuclear por IgG e aumento de proteína são verificados na análise do líquido cefalorraquidiano, entretanto, este não é um achado patognomônico da infecção pelo VC e nem todos os animais vão apresentar esta alteração, revelando somente que o paciente possui uma inflamação no SNC (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015)

O diagnóstico da cinomose é realizado com identificação de inclusões virais por exame citológico, visualização de anticorpos em testes de imunofluorescência e isolamento viral. A detecção de antígenos do VC provenientes de amostras do epitélio do coxim plantar, tecido uveal e pele podem ser detectadas por até 60 dias em ensaios imunocitológicos (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

O exame de transcriptase reversa da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) possui boa especificidade e sensibilidade, permitindo a identificação do RNA viral em amostras de sangue periférico, líquido cefalorraquidiano ou raspado conjuntival em animais apresentando a fase sistêmica ou neurológica da doença, entretanto, esse método não é capaz de diferenciar a cepa viral virulenta da vacinal, portanto, a interpretação do resultado positivo deve ser acompanhada pelo histórico compatível do animal (GREENE, 2015; NELSON; COUTO, 2015).

Outra possibilidade para o diagnóstico da cinomose são exames imunocromatográficos, sendo considerados como testes rápidos. As amostras podem vir de *swabs* nasais, conjuntivais ou soro sanguíneo. O teste baseado na detecção do antígeno viral é preferível quando comparado ao de detecção de anticorpo, pois resultados falso-positivos podem ser diagnosticados em animais previamente vacinados e, a depender do estágio da doença, o animal pode não ter desenvolvido resposta imune, gerando um resultado falso-negativo. Todavia, a detecção do antígeno viral é mais eficaz no curso crônico da doença, sendo esse método mais confiável que a demonstração de corpúsculos de inclusão no tecido do SNC para confirmar encefalite decorrente do VC (RANNO; ALENCAR, 2018; GREENE, 2015).

1.7 Tratamento

Assim como outras infecções virais, o tratamento do VC baseia-se em suporte sintomático, combatendo eventuais infecções secundárias e melhorando a qualidade de vida do animal (GREENE, 2015).

Quadros gastroentéricos são comuns nessa afecção, portanto uma terapia de suporte com uso de antieméticos parenterais, fluidoterapia, suplementação vitamínica, protetores estomacais, nutrição específica e antibióticoterapia em casos de afecções secundárias é recomendado (PORTELA et al., 2017; GREENE, 2015; NELSON e COUTO, 2015).

Em caso de afecções do sistema respiratório superior, os animais devem ser mantidos em ambientes limpos e aquecidos. A pneumonia geralmente está associada a uma infecção bacteriana secundária, sendo necessária uma antibioticoterapia de amplo espectro, uso de expectorantes, broncodilatadores e nebulização. (PORTELA et al., 2017; GREENE, 2015).

A ribavirina, uma droga antiviral análoga a guanosina, inibe a replicação viral *in vitro* de alguns RNA e DNA-vírus, como *Hepervirus*, *Poxvirus*, *Reovirus*, *Togavirus* e *Paramyxovirus*. Seu espectro de ação *in vivo*, é limitado aos *Herpesvirus*, *Influenza*, *Parainfluenza*, *Paramyxovirus* do Sarampo e *Adenovirus* (MANGIA et al., 2014).

MANGIA et al. (2008), sugeriram a ribavirina como opção de tratamento da fase neurológica da doença em associação com dimetil-sulfóxido (DMSO), na dose de 30mg/Kg, via oral, a cada 24h, durante 15 dias, apresentando

atividade efetiva contra o vírus. Entretanto, sua utilização carece de mais estudos, pois foi demonstrado que seu uso pode induzir efeitos colaterais na medula óssea e nos sistemas imune e gastrointestinal dos pacientes.

O tratamento do quadro neurológico pode ser menos compensador, pois a encefalite multifocal apresenta um caráter progressivo, sendo assim, o animal não se recupera totalmente, podendo apresentar sinais neurológicos pelo resto da vida. Em quadros convulsivos, o diazepam parenteral pode ser utilizado para retirar o animal do estado epiléptico e o fenobarbital pode ser usado para posterior manutenção. Em casos de edema cerebral, glicocorticoides são recomendados (FREIRE; MORAES, 2019; GREENE, 2015).

Terapias complementares como fisioterapia e acupuntura foram sugeridas para a reabilitação e melhora na qualidade de vida dos pacientes que possuem sequelas neurológicas da cinomose, apresentando bons resultados nos casos de incontinência urinária, paresias e paralisias, atrofia muscular e retenções fecais e urinárias (FREIRE; MORAES, 2019). Adicionalmente, a terapia celular com o uso de células tronco foi sugerida como opção de tratamento em casos de doenças inflamatórias e degenerativas, alcançando resultados satisfatórios nos estudos realizados (BALDOTTO, 2019; BRITO et al., 2015; MONTEIRO, 2017; SANTOS et al., 2019).

2 Células Tronco:

Células tronco são definidas como células primitivas e indiferenciadas, com grande capacidade de proliferação e autorrenovação, sem distinção de aspectos morfológicos e responsivas a estímulos externos que as induzem a se diferenciar em diversos tipos de linhagens celulares (MAZZARELLA et al., 2016; PEREIRA, 2008; GRINFELD; GOMES, 2004).

Sua categorização se dá em relação ao seu potencial de diferenciação, podendo ser totipotentes, que podem se diferenciar em todas as células ou tecidos do organismo, encontradas no zigoto, pluripotentes, podendo originar a maioria das células do organismo, sendo encontradas no embrião e multipotentes, que originam um número limitado de células, restritas a camada germinativa, sendo encontradas em diversos tecidos adultos, como na gordura, MO e epitélio olfatório (MAZZARELLA et al., 2016; PEREIRA, 2008; GRINFELD; GOMES, 2004).

Células tronco embrionárias (CTE) são células pluripotentes originadas a partir da massa celular interna do embrião, com capacidade de multiplicação indefinida e manutenção de seu estado indiferenciado sob condições apropriadas de cultivo em laboratório (PEREIRA, 2008).

Tal capacidade de multiplicação *in vitro* representaria uma enorme vantagem na terapia celular, como uma fonte virtualmente inesgotável de células tronco, se não houvesse barreiras éticas, de utilizar embriões para sua obtenção e de segurança, por sua capacidade de originar teratomas quando implantadas em seu estado indiferenciado diretamente em pacientes. Devido a isso, o tratamento com as CTE se voltou para a obtenção de células diferenciadas a partir de células embrionárias, entretanto, esse tipo de terapia levanta ainda outras questões como a possibilidade de rejeição por parte do hospedeiro (PEREIRA, 2008).

As células tronco adultas (CTA) são células mesodermais, multipotentes, indiferenciadas, com capacidade de multiplicação e diferenciação limitadas. (B MONTEIRO, 2017; BYDLOWSKI et al., 2009).

Tais células estão presentes em vários tecidos, como medula óssea (MO), tecido adiposo, parênquima de órgãos e tecido muscular, sendo capazes de se diferenciar em linhagens celulares necessárias no processo de reparação tecidual, tal como adipogênica, osteogênica, condrogênica, neurogênica, nefrogênica e cardiomiogênica (MONTEIRO, 2017a; MONTEIRO et al., 2010b).

Durante anos acreditou-se que as células tronco adultas possuíam um potencial de diferenciação limitado ao local em que se encontram, por exemplo, CTAs presentes na medula óssea só se diferenciam em linhagens sanguíneas, osteogênica, adipogênica ou condrogênica. Entretanto, foi demonstrado em vários estudos que células tronco advindas da medula óssea, as células tronco mesenquimais (CTM), podem originar linhagens diferentes, como cardiogênica e neurogênica, o que possibilitou a expansão de seu potencial terapêutico devido a fácil obtenção, cultura e aplicabilidade clínica (MONTEIRO et al., 2010)

2.1 Obtenção e cultura das CTM

As células tronco mesenquimais representam uma pequena parcela das células presentes na medula óssea, cerca de 0,001 a 0,01% da população total, sendo obtidas a partir de aspirado da crista ilíaca superior, tibia, fêmur e das regiões torácica e lombar da coluna cervical (BERTINE; ARAUJO, 2009).

Essas células podem ser isoladas de várias maneiras, entretanto, o mais utilizado é a separação por gradiente de concentração para a obtenção de células mononucleares. As células obtidas são cultivadas em meio contendo soro fetal bovino, onde as CTM se aderem ao plástico juntamente com algumas células de linhagem sanguínea, entretanto as segundas são removidas com o tempo e trocas de meios de cultura. Ao final da separação obtêm-se uma cultura homogênea, contendo células fibroblastóides de formato fusiforme, com capacidade de autorrenovação e diferenciação em linhagens distintas (MONTEIRO et al., 2010; BYDLOWSKI et al.,2009).

As CTM não possuem marcadores específicos de membrana para sua imunofenotipagem, portanto alguns marcadores inespecíficos são utilizados para sua caracterização, como CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD166, Stro-1 e Sca-1. Adicionalmente, as células não podem expressar em sua superfície marcadores de linhagens hematopoiéticas e endoteliais, como CD11b, CD14, CD31, CD79, CD19, HLA-DR, CD33 e CD45 (MONTEIRO et al., 2010; BYDLOWSKI et al.,2009).

Aceita-se que a caracterização de uma cultura de CTMs se dê pela junção de três fatores, aderência ao plástico em cultura, capacidade de se diferenciar em linhagens condrogênica, adipogênica e osteogênica, além da presença dos marcadores celulares CD105, CD73 e CD90 e ausência de expressão de marcadores hematopoiéticos em suas superfícies (MONTEIRO et al., 2010; BYDLOWSKI et al.,2009).

2.2 Ação das células tronco no sistema nervoso central:

O potencial terapêutico das CTM deve-se a sua capacidade de diferenciação em linhagens celulares especializadas, efeito parácrino e imunomodulatório, além de migrarem para o sitio de inflamação, recrutando as células tronco do local afetado a se diferenciarem e regenerarem o tecido acometido. O transplante pode ser feito diretamente no local lesado, como em

fraturas ósseas, articulares e lesões no sistema nervoso central, através da via intratecal. Entretanto, as vias endovenosa e subcutânea podem ser utilizadas devido à capacidade das células de migrar aos sítios de inflamação no corpo do animal, representando uma vantagem em seu uso clínico por permitir uma abordagem não invasiva nos pacientes (BALDOTTO, 2019; MONTEIRO; ARGOLLO NETO; CARLO, 2010; BERTINE; ARAUJO, 2009; BYDLOWSKI et al., 2009; GRINFELD; GOMES, 2004).

No tratamento de afecções do sistema nervoso central, as CTM agem de maneira semelhante a células responsáveis pela resposta inflamatória, sendo atraídas quimiotaticamente ao local da lesão pelos mediadores inflamatórios, secretados localmente por monócitos e macrófagos, atravessando a barreira hemato-encefálica, se alojando em locais próximos a lesão (CHOPP; LI, 2002).

CHOPP e LI (2002) realizaram um estudo sobre a ação das CTM no tecido neural lesionado. Foi demonstrado que a regeneração tecidual em modelos de infarto e injúria neural, não se dá por uma diferenciação em células neurais propriamente ditas, pois o número de células que se diferenciaram pós implante não corresponde aos efeitos observados. Uma teoria mais razoável é que a secreção de fatores de regeneração celular provenientes das CTM induzem o tecido neural a ativar vias endógenas próprias de reparação tecidual.

O efeito terapêutico das CTM é considerado multifatorial, elas são capazes de produzir fatores de crescimento específicos para o local da injúria tecidual, promovendo a regeneração local, previnem a apoptose dos tecidos próximos a lesão, promovem angiogênese e têm um efeito imunomodulatório. No caso do SNC, foi demonstrado que elas secretam fatores neurotróficos como o NGF (*nerve growth factor* [do inglês]) e BDNF (*brain-derived neurotrophic factor* [do inglês]), estimulando a neurogênese, VEGF, um agente angiogênico, TGF- β (*transforming growth factor β* [do inglês]), responsável por reparação tecidual e expressam a molécula de adesão celular neuropilina (RIBEIRO et al., 2017; CHOPP; LI, 2002).

Após injúria, o tecido nervoso apresenta características de estágios iniciais de desenvolvimento, o que o torna altamente responsivo ao estímulo promovido pelas CTM. Lesões no SNC amplificam a neurogênese em

determinadas áreas, como zona subventricular, adjacente aos ventrículos laterais e o plexo coróide. Os fatores tróficos e de crescimento secretados pelas MSC estimulam essas áreas a gerar novas células neurais e sua migração para o local afetado, promovendo neurogênese, sinaptogênese e arborização dendrítica. Logo, as CTM provêm os recursos necessários a regeneração tecidual no SNC através de sua ação parácrina (CHOPP; LI, 2002).

3. Uso de células tronco mesenquimais no tratamento de sequelas neurológicas da cinomose canina

Diante da ação benéfica ao SNC, o tratamento de sequelas neurológicas da cinomose foi estudado por diversos autores, obtendo bons resultados com relação a melhora da qualidade de vida dos pacientes. O tratamento preconizado consiste no transplante de CTM alogênicas uma a três vezes, via endovenosa ou intratecal, com avaliações dos quadros neurológicos dos animais no M0, correspondente ao período prévio ao tratamento, M1, M2 e M3, correspondentes às aplicações das CTM, variando entre os estudos (BALDOTTO, 2019; SANTOS et al., 2019; BRITO, 2015).

SANTOS (2019) utilizou o protocolo de três aplicações intravenosas, com intervalo de 30 dias entre cada uma em dez cães que apresentavam sequelas neurológicas. Trinta dias após a primeira aplicação, os resultados benéficos já foram observados nos animais, que apresentaram melhora no apetite, nos quadros gastrointestinal, respiratório, ocular, diminuição da mioclonia e melhor sustentação dos membros pélvicos. Desses, 7 apresentaram normalização dos sintomas, enquanto 3 ainda apresentavam leve mioclonia, porém com boa atividade motora após a terceira aplicação

BALDOTTO (2019) avaliou a segurança e eficácia do tratamento com células tronco aplicadas via intratecal em 10 animais em dose única. Os animais foram submetidos a anestesia geral para realizar o exame de ressonância magnética, coleta de líquido para avaliação de presença de citocinas pró inflamatórias e aplicação das células tronco. Trinta dias após, os animais passaram por exame clínico, neurológico, ressonância magnética,

além dos exames de sangue, bioquímicos e análise do líquido cefalorraquidiano. Os resultados obtidos demonstraram que houve pouca reação local a aplicação das CTM e foi observado uma melhora no quadro do animal, demonstrando que essa via é segura e eficaz.

Os resultados obtidos nos estudos confirmaram que os animais apresentaram uma melhora no quadro neurológico, com melhora na deambulação, paresia de membros e propriocepção após a primeira aplicação das CTM sem apresentarem reações significativas, demonstrando que o uso de células tronco mesenquimais representa uma alternativa viável e segura no tratamento de sequelas neurológicas da cinomose.

Entretanto, vale ressaltar que a eficácia do mesmo está atrelado a fatores como período da doença, pois a fase virêmica diminui sua eficácia e cronicidade das lesões, quanto mais cedo o tratamento for instaurado, melhores são os resultados obtidos (BALDOTTO, 2019; SANTOS et al., 2019; BRITO, 2015).

Conclusão

Diante do exposto, pode-se concluir que o uso de células tronco mesenquimais é eficaz no tratamento de sequelas neurológicas da cinomose, melhorando a qualidade de vida dos animais e de suas famílias. Entretanto, os mecanismos pelos quais as CTM exercem sua ação regenerativa ainda carecem de mais estudos para serem completamente compreendidos. Além disso, a associação da terapia celular com terapias alternativas, como a fisioterapia e acupuntura pode promover um efeito benéfico ainda maior na qualidade de vida dos pacientes.

Bibliografia:

BALDOTTO, S. B. **Efeitos da terapia com células estromais mesenquimais multipotentes em cães com encefalomielite pelo vírus da cinomose [online]**. 2019. 187 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/180951>. Acesso em: 10 abr. 2022.

BERTINE, M. A. H.; ARAUJO, F. S. Biologia e uso clínico das células-tronco mesenquimais: uma revisão concisa. **Investigação [online]**, v. 9, n. 2-3, 2009. Disponível em: <https://publicacoes.unifran.br/index.php/investigacao/article/view/56> Acesso em: 17 abr. 2022.

BRITO, H. F. V. **Utilização de células mononucleares de medula óssea para o tratamento de sequelas neurológicas de cinomose canina [online]**. 2015. 77 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2015. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/41363?show=full>. Acesso em: 25 abr. 2022.

BYDLOWSKI, S. P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]**, v. 31, p. 25-35, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/qZ47zKnRRRhJnR6hzmQqGZk/abstract/?lang=pt> Acesso em: 25 abr. 2022.

CHOPP, M.; LI, Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. **The Lancet Neurology**, [online], v. 1, n. 2, p. 92-100, jun. 2002. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1474442202000406>. Acesso em: 25 abr. 2022.

GREENE, C. E. **Infection Diseases of the Dog and Cat**. 4.ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2015. p. 72 - 107

GRINFELD, S.; GOMES, R. G. C. Células tronco: um breve estudo/Stem Cells: a brief study. **IJD. International Journal of Dentistry** [online], v. 3, n. 1, p. 324-329, 2008. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/dentistry/article/viewFile/13830/16679> Acesso em: 17 abr. 2022.

MANGIA, S. H et al. Efeitos colaterais do uso da ribavirina, prednisona e DMSO em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [online], v. 34, n. 5, p. 449-454, maio 2014. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/BFVxnhBBLFBYhThkhfFQHnn/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 10 abr. 2022.

MANGIA, S. H. **Tratamento experimental de cães naturalmente infectados com vírus da cinomose na fase neurológica com uso da Ribavirina e Dimetil-sulfóxido (DMSO)** [online]. 2008. 185 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2008. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/89928> Acesso em: 10 abr. 2022

MANGIA, S. H.; PAES, A. C. Neuropatologia da cinomose. **Veterinária e Zootecnia** [online], v. 15, n. 3, p. 416-427, 2008. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/392> Acesso em: 25 abr. 2022.

MARTELLA, V.; ELIA, G.; BUONAVOGLIA, C. Canine Distemper Virus. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, [online], v. 38, n. 4, p. 787-797, jul. 2008. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561608000697>. Acesso em: 25 abr. 2022.

MAZZARELLA, R. et al. Células-tronco derivadas do epitélio olfatório: perspectivas terapêuticas na medicina veterinária. **Pesquisa veterinaria**

brasileira [online], v. 36, p. 787-792, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/8mGDzM3YtsngqDVKQmJ3rDK/abstract/?lang=pt>
Acesso em: 25 abr. 2022

MONTEIRO, B. A. **Efeitos da terapia com células tronco mesenquimais em afecções do sistema nervoso de cães** [online]. 2017. 187 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Biotecnologia Animal - Fmvz, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/180951>. Acesso em: 25 abr. 2022.

MONTEIRO, B. S.; ARGOLO NETO, N. M.; DEL CARLO, R. J. Células-tronco mesenquimais. **Ciência Rural**, [online], v. 40, p. 238-245, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/CpHCgGmXgBBqZv67h5G9BjK/abstract/?lang=pt>
Acesso em: 17 abr. 2022.

NARDO, T. F. S. **Contribuição dos astrócitos na leucoencefalite canina imunomediada causada pelo vírus da cinomose** [online]. 2018. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/180688?show=full>. Acesso em: 25 abr. 2022.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5.e.d. Rio de Janeiro. Elsevier, 2015. p. 3894 - 3901

PEREIRA, L.V. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. **Ciênc. Saúde Coletiva**, [online], v.13, n.1, p.7-14, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/Jxx3B5stXPw4L9t5LVrxszq/?lang=pt&format=html>
Acesso em: 25 abr. 2022

PORTELA, V. A. B.; LIMA, T. M.; MAIA, R. C. C. Cinomose canina: revisão de literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)** [online], v. 11, n. 3, p. 162–171, 2017. Disponível em:

<http://journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1776>. Acesso em: 5 abr. 2022.

RANNO, I. L.; ALENCAR, C. L. M.; **Diagnóstico de Cinomose Canina por Teste Rápido no Hospital Veterinário FAG**. 2º Congresso Nacional de Medicina Veterinária FAG. Emavet FAG [online]. 2018. Disponível em: <http://www.themaetscientia.fag.edu.br/index.php/ACNMVF/article/view/651> Acesso em: 25 abr. 2022.

RIBEIRO, P. C. et al. Células-tronco mesenquimais e seu potencial terapêutico: uma breve revisão. **Revista Interação Interdisciplinar (ISSN: 2526-9550)** [online], v. 1, n. 2, p. 182-191, 2017. Disponível em: <https://www.unifimes.edu.br/ojs/index.php/interacao/article/view/192>. Acesso em: 25 abr. 2022

SANTOS, E. J. C. et al. Células-tronco mesenquimais alogênicas no tratamento das sequelas neurológicas de cinomose canina. **Medvep** - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação [online]. v. 49, n. 3, p. 32-40, 2019. Disponível em: <http://www.celltrovet.com.br/publicacoes/4%20-%20C%C3%A9lulas-tronco%20mesenquimais%20alog%C3%AAnicas%20no%20tratamento%20das%20sequelas%20neurol%C3%B3gicas%20de%20cinomose%20canina.pdf> Acesso em: 25 abr. 2022.

VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. **Acta Neuropathologica** [online], v. 109, n. 1, p. 56–68, jan. 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00401-004-0958-4> Acesso em: 25 abr. 2022.