

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU - USJT

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

GABRIELA FERREIRA MACIEL

JOYCE ALVES VOLTOLINI

WELLINGTON RODRIGUES FELIX DE SOUZA

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO PARA O
TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS CAUSADAS PELA CINMOSE**

SÃO PAULO - SP

2023

GABRIELA FERREIRA MACIEL

JOYCE ALVES VOLTOLINI

WELLINGTON RODRIGUES FELIX DE SOUZA

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO PARA O
TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS CAUSADAS PELA CINMOSE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado no centro universitário São Judas Tadeu - USJT, no campus do Jabaquara, do curso de graduação em medicina veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Fabíola Eloisa Setim

São Paulo

2023

GABRIELA FERREIRA MACIEL

JOYCE ALVES VOLTOLINI

WELLINGTON RODRIGUES FELIX DE SOUZA

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO PARA O
TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS CAUSADAS PELA CINOMOSE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado no centro universitário São Judas Tadeu - USJT, no campus do Jabaquara, do curso de graduação em medicina veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Fabíola Eloisa Setim

São Paulo, _____ de _____ de 2023.

Banca Examinadora

NOME DO EXAMINADOR

Titulação

Instituição a qual é filiado

NOME DO EXAMINADOR

Titulação

Instituição a qual é filiado

NOME DO EXAMINADOR

Titulação

Instituição a qual é filiado

NOTA: ____

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaríamos de agradecer a todos os nossos professores, por compartilharem o conhecimento e em especial, a nossa orientadora Dra. Fabíola Setim, pelo apoio constante ao longo deste processo.

Gostaríamos também de agradecer aos nossos familiares, que sempre nos incentivaram durante todo o período da graduação, sem dúvidas o apoio de vocês foi essencial para conseguirmos passar por todos os desafios e concluirmos mais uma etapa de nossas vidas.

Por fim, agradecemos a todos que passaram por nós e fizeram parte da nossa formação acadêmica.

RESUMO

A cinomose canina é uma doença altamente contagiosa que afeta tanto cães domésticos quanto selvagens, causando problemas nos sistemas respiratório, gastrointestinal e neurológico. Ela se espalha principalmente entre animais não vacinados ou com vacinação incompleta, atingindo seu pico entre 60 e 90 dias de idade, quando os anticorpos maternos diminuem. O diagnóstico envolve dados históricos, exames clínicos e análises laboratoriais de secreções e tecidos. O tratamento convencional inclui cuidados de suporte e antibióticos para evitar infecções secundárias. As células-tronco mesenquimais (MSCs) mostraram ser promissoras no tratamento das sequelas neurológicas da cinomose. No entanto, a falta de padronização nos métodos e dosagens de MSCs destaca a necessidade de estabelecer procedimentos mais consistentes para avaliar sua eficácia e segurança. Em resumo, embora haja resultados encorajadores, a pesquisa nesta área precisa resolver questões fundamentais, como padronização de protocolos e uma análise mais aprofundada dos mecanismos subjacentes. Este trabalho tem como objetivo revisar ensaios clínicos recentes em cães com sequelas neurológicas da cinomose, proporcionando informações sobre o estado atual da pesquisa.

Palavras chave: Doença, cães, células mesenquimais, ensaios clínicos.

ABSTRACT

Canine distemper is a highly contagious disease that affects both domestic and wild dogs, causing issues in the respiratory, gastrointestinal, and neurological systems. It primarily spreads among unvaccinated or incompletely vaccinated animals, reaching its peak between 60 and 90 days of age when maternal antibodies decrease. Diagnosis involves historical data, clinical examinations, and laboratory analyses of secretions and tissues. Conventional treatment includes supportive care and antibiotics to prevent secondary infections. Mesenchymal stem cells (MSCs) have shown promise in treating the neurological sequelae of canine distemper. However, the lack of standardization in MSC methods and dosages underscores the need to establish more consistent procedures to evaluate their efficacy and safety. In summary, while there are encouraging results, research in this area needs to address fundamental issues such as protocol standardization and a deeper analysis of underlying mechanisms. This work aims to review recent clinical trials in dogs with neurological sequelae from canine distemper, providing insights into the current state of research.

Keywords: Disease, Dogs, Mesenchymal Cells, Clinical Trials.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3. METODOLOGIA.....	11
4. CINMOSE.....	12
4.1 Agente etiológico.....	12
4.2 Etiologia.....	12
4.3 Epidemiologia.....	13
4.4 Transmissão.....	14
4.5 Patogenia.....	14
4.6 Sintomatologia.....	15
4.7 Diagnóstico.....	16
4.8 Tratamento convencional.....	17
4.8.1 Tratamento alternativo relacionado às sequelas neurológicas.....	18
4.9 Prevenção e controle.....	18
5. FUNDAMENTOS SOBRE CÉLULAS-TRONCO.....	19
5.1. Introdução às células-tronco.....	19
5.2. Classificação das células-tronco.....	19
5.2.1. Potencial de ação.....	19
5.2.2. Origem.....	20
5.2.2.1. Células tronco embrionárias (CTE).....	20
5.2.2.2. Células tronco adultas.....	20
5.2.2.3. Células-tronco de pluripotência induzida (CTPI).....	20
5.3. Importância e aplicações das células tronco em medicina e pesquisa.....	21
6. TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO PARA O TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS.....	21
6.1. Introdução à Terapia com Células-Tronco.....	21
6.2. Uso células troncos em sequelas do sistema nervoso.....	22
6.2.1. Sistema nervoso.....	22
6.2.2. Células-tronco mesenquimais.....	23
6.2.3. Protocolo de Terapia Celular.....	25
6.2.3.1. Origem.....	25
6.2.3.2. Isolamento.....	25
6.2.3.3. Caracterização.....	25
6.2.3.4. Aplicação.....	26
6.6. Células-Tronco e Neuroregeneração.....	27
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

A cinomose canina é uma doença infectocontagiosa causada pelo vírus conhecido como CDV, pertencente à família Paramyxoviridae, gênero Morbillivirus. A transmissão do vírus ocorre por meio de contato direto entre animais infectados e saudáveis, secreções, fômites e por contaminação de ambiente hospitalar (FLORES, 2012; MARTELLA et al., 2008). A doença é conhecida por afetar principalmente filhotes de canídeos, incluindo lobos, raposas e coiotes e, de acordo com Correa (1992), a incidência é mais alta entre os 60 e 90 dias de vida, período em que diminui a taxa de anticorpos maternos.

No entanto, cães até os dois anos de idade são comumente afetados, em função da não vacinação, falhas imunológicas ou ausência de contato com o vírus. Cães a partir dos 7-9 anos também podem desenvolver a doença (CORREA e CORREA, 1992). Devido a sua alta taxa de transmissão, essa enfermidade é notável pela sua variedade de sintomas e potencial gravidade, afetando diversos sistemas dos animais acometidos.

Os sinais clínicos se desenvolvem pouco tempo após a infecção e acomete o trato respiratório, gastrointestinal e o sistema neurológico. O primeiro sinal clínico é a presença de secreção nasal ou ocular, serosa mucopurulenta, seguida por tosse seca e os animais afetados podem apresentar também depressão, apatia e febre. Já os sinais neurológicos aparecem após a recuperação da doença sistêmica entre a primeira e a terceira semana variando de acordo com a área acometida pelo sistema nervoso central. É possível observar hiperestesia e rigidez cervical ou paraespinal em alguns cães como resultado de inflamação meníngea. Convulsões, sinais cerebelares e vestibulares, paraparesia ou tetraparesia com ataxia sensorial e mioclonia são comuns (GREENE E VANDEVELDE, 2015).

O tratamento de suporte e antibioticoterapia para evitar infecções secundárias é o mais convencional. Estudos mostram a utilização de proteínas e intérferons como a Ribavirina que atua inibindo replicação in vitro de alguns RNA e DNA-vírus e associação da Ribavirina ao DMSO para combate ao vírus na fase neurológica da doença (MANGIA et al. 2008).

O que torna a cinomose ainda mais preocupante é o fato de que, em cerca de 30% dos casos, os animais que se recuperam da doença desenvolvem sequelas neurológicas (BRITO et al., 2010). Portanto, é imperativo buscar abordagens terapêuticas inovadoras para melhorar a qualidade de vida dos cães afetados por essa condição.

As células-tronco são células indiferenciadas que possuem a notável capacidade de auto regenerar e habilidade de se diferenciar em diferentes tipos celulares e estão presentes em todos os estágios da vida (embrionário, fetal e adulto) (KOLIOS e MOODLEY, 2013). As células-tronco mesenquimais (CTM) são células adultas originárias do tecido adiposo e medula óssea. Elas possuem a capacidade de migrar para o foco da lesão por quimiotaxia e atuar em tecidos lesionados de músculo, baço e Sistema Nervoso Central (MAO et al. 2015).

Diversos testes já foram realizados utilizando as CTMs em cães através de vias de acesso distintas, mostraram diminuição nos sinais neurológicos e melhores resultados nos exames histopatológicos (MONTEIRO, 2017).

Este trabalho busca explorar a pesquisa atual e as práticas clínicas relacionadas à terapia com células-tronco como uma intervenção para amenizar as sequelas da cinomose canina.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal do presente trabalho é abordar, através de levantamento bibliográfico, o uso de células-tronco como uma abordagem terapêutica para reduzir as sequelas neurológicas causadas pela cinomose canina, e assim promover uma qualidade de vida para esses animais acometidos por essa doença.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obter informações sobre a cinomose canina e as sequelas que podem afetar os animais acometidos por essa doença.

Contribuir para o conhecimento científico sobre o uso de células-tronco no tratamento das sequelas neurológicas, através de revisão bibliográfica.

Compreender como essa nova técnica funciona no organismo dos animais e como ela pode ser considerada um método promissor.

3. METODOLOGIA

Este estudo apresenta uma abordagem qualitativa e de objetivo descritiva, na qual optamos por selecionar artigos científicos e revistas publicadas referente a células-tronco dando ênfase para o tratamento de sequelas neurológicas causadas pelo vírus CDV, através de buscas em sites como o, Google Acadêmico e Scielo, selecionando obras tanto de origem brasileira quanto de origem estrangeira, dando prioridade para estudos mais recentes e utilizando as palavras-chave: Cinomose, Células-tronco e sequelas neurológicas. Trabalhos que não se destinavam à cinomose em canídeos ou artigos incompletos foram excluídos do levantamento bibliográfico que se deteve nos últimos 10 anos.

4. CINOMOSE

4.1 Agente etiológico

A cinomose é uma doença infectocontagiosa causada pelo vírus da cinomose canina (CDV, canine distemper virus) do gênero Morbillivirus, que pertence à família Paramyxoviridae. O CDV é caracterizado por apresentar RNA com fita helicoidal de sentido negativo, e possuir envelope de lipoproteína. Essas características fazem com que o vírus atue na fusão celular e citólise imunomediada das células infectadas e ao mesmo tempo, interfere na produção de citocinas, o que acarreta a imunossupressão do animal (GREENE, 2011; NELSON e COUTO, 2015; PRATAKPIRIYA et al, 2017). A doença pode apresentar-se sob três formas clínicas: aguda, subaguda e crônica, onde a duração e gravidade da enfermidade pode depender de alguns fatores, como o perfil imunológico do animal.

Conhecida por afetar principalmente filhotes de canídeos, incluindo lobos, raposas e coiotes e por apresentar distribuição mundial, que possui alta atividade infecciosa, distribuídos através da via respiratória, e que são capazes de causar profunda imunossupressão, além de estar associado a grandes surtos envolvendo alta morbidade e mortalidade de acordo com Lempp (2014).

4.2 Etiologia

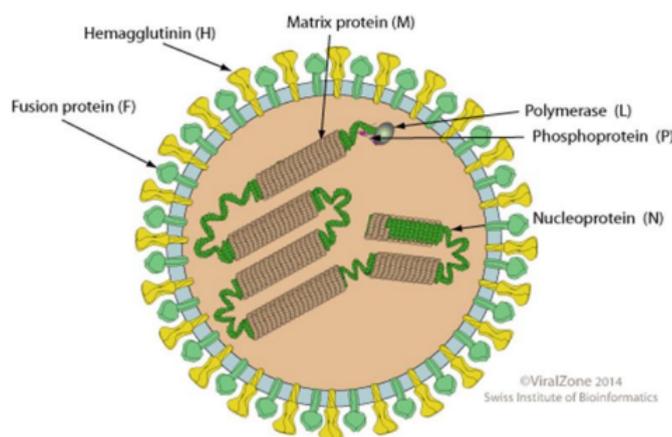
O vírus da cinomose canina é um RNA de fita simples, de simetria helicoidal e envelopado. Morfologicamente, é constituído por seis proteínas estruturais, das quais três são internas (L, N e P) e três são inseridas no envelope (M, H e F). De acordo com Bondan (2008), a proteína nucleocapsídeo (N), é responsável pela proteção do material genético, enquanto as proteínas do complexo polimerase (L e P), encontram-se envolvidas na transcrição e na replicação do RNA viral.

O vírus é sensível ao calor, sendo inativado a temperatura de 56°C, em temperaturas baixas ela mantém sua capacidade infectante permanecendo por semanas a temperaturas superiores ao ponto de congelamento até por meses e anos. Os solventes lipídicos como

detergentes e desinfetantes destroem facilmente o agente por se enveloparem (CATROXO, 2003).

A proteína matriz (M) é importante para a maturação viral e funciona como uma ponte das glicoproteínas de superfície ao nucleocapsídeo, já as glicoproteínas de fusão (F) e de hemaglutinina (H), desempenham papéis na patogenia da doença, respectivamente, uma faz a fusão do vírus até a célula hospedeira, e a outra está envolvida na indução da resposta imunológica do hospedeiro à infecção, de acordo com Bondan (2008).

Figura 1: Representação esquemática da estrutura de um Morbillivirus.



Fonte: Rima et al., (2019).

O CDV, tem uma característica de citopatogenicidade que é notada pelo efeito citopático (ECP). A replicação do vírus em células do hospedeiro induz a formação de células gigantes com inclusões eosinofílicas intracitoplasmática e intranuclear. Essas inclusões surgem no citoplasma entre 24 e 48 horas, consistindo de uma massa de cobertura do nucleocapsídeo com material granular entremeado com sistema de túbulos e vesículas semelhantes ao complexo de Golgi (BRAZ, 2009).

De acordo com Braz (2009), após 48 horas da infecção, como mecanismo de defesa, esta estrutura sem as vesículas e com microvilos é expulsa da célula. Após 60 horas há uma marcante formação das microvilosidades ocorrendo depois à fusão celular. Inclusões intranucleares eosinofílicas ocorrem depois da formação de sincício, que consiste de uma extensão rígida do nucleocapsídeo sem o material granular associado com a forma citoplasmática.

4.3 Epidemiologia

A CVD pode acometer cães de diferentes idades, raça e sexo e não há diferença de susceptibilidade da infecção entre machos e fêmeas, no entanto, cães das raças dolicocefálicas são mais afetados que os braquiocefálicos (CORRÊA & CORRÊA, 1992; GRANCHER et al., 2004; GREENE, 2006) havendo, ainda, relato de casos também em outros animais, como lobos, raposas e coiotes.

A cinomose canina é relatada em vários países, de acordo com Negrão (2006) e devido à vacinação regular de grande parte da população canina, a frequência da doença clínica tem diminuído, sendo relatados apenas focos esporádicos. Podendo ocorrer em qualquer época do ano, observa-se um maior acometimento dos cães durante os meses de inverno, devido, entre outros fatores, à sobrevivência do vírus no meio ambiente (MONTI, 2014). No Brasil, de acordo com Oliveira (2009), a cinomose é endêmica e representa até 6% de todas as ocorrências clínicas e até 11% das mortes em cães.

4.4 Transmissão

De acordo com Headley (2012), a transmissão viral se estabelece através dos aerossóis e gotículas infectantes oriundas das excreções e secreções corpóreas dos animais infectados. As cadelas prenhes infectadas estão aptas a transmitir o vírus por via transplacentária, o que pode ocasionar abortos, fetos natimortos ou o nascimento de filhotes fracos e imunossuprimidos. O vírus acomete cães de todas as idades, raças e sexos, entretanto filhotes não vacinados estão mais predispostos a serem acometidos por essa enfermidade (MARTELLA et al., 2008), tendo uma incidência mais alta entre os 2 primeiros meses de vida do animal, período em que diminui a taxa de anticorpos maternos.

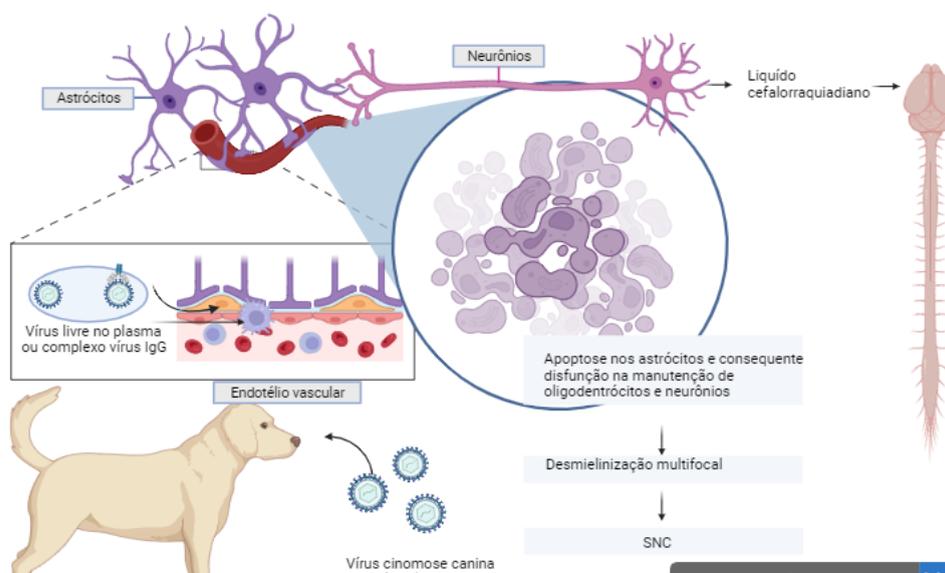
4.5 Patogenia

O CDV infecta inicialmente o trato respiratório superior, durante as primeiras 24 horas após a infecção, onde ocorre a replicação viral em macrófagos e linfócitos B e T circulantes, até que as partículas virais se espalham pela via linfática para os gânglios e tonsilas. Essa replicação inicial nos tecidos linfóides leva a imunossupressão duradoura e grave (DEEM et al., 2000; VANDEVELDE e ZURBRIGEN, 2005; GREENE, 2006).

Do segundo dia até o sexto dia, o vírus se espalha para outros órgãos linfóides, e se replica na lâmina própria do estômago, intestino delgado, linfonodos mesentéricos e células de Kupffer's no fígado, e chega até o tecido epitelial, neste período o animal pode desenvolver anticorpos contra o vírus, mudando o andamento da infecção de acordo com Shell (1990). Caso não adquiram esses anticorpos estes animais terão suas células epiteliais infectadas, continuando a replicação viral, aparecendo os sinais clínicos entre o décimo quarto ao décimo nono dia. Entretanto, cães devidamente imunizados e que apresentam resposta imune adequada para o vírus da cinomose não costumam apresentar a sintomatologia da doença, e eliminam o vírus até, em média, o décimo quarto dia após a infecção (NELSON e COUTO, 2015; DEEM et al., 2000).

Cerca de oito a dez dias pós infecção, o vírus migra por meio de vias hematogênicas ou pelo líquido cefalorraquidiano (LCR) para os tecidos epiteliais e o sistema nervoso central, levando a sinais clínicos nervosos (SUMMERS et al., 1979; HIGGINS et al., 1982; MACLACHLAN e DUBVO, 2011). O vírus desencadeia alterações neurológicas importantes e muitas vezes irreversíveis ao entrar no SNC e o grau de comprometimento está diretamente ligado ao tipo de cepa envolvida e aos fatores imunes e fisiológicos que envolvem o hospedeiro. Por ser uma doença infecciosa grave, possui índice de mortalidade muito alto, de 50% a 90%, ficando atrás apenas do vírus da raiva (ETTINGER e FELDMANO, 1995).

Figura 2: Progressão da infecção sistêmica para a infecção nervosa na cinomose canina.



Fonte: Modificado de Moro et al. (2004) Autoria própria.

4.6 Sintomatologia

Os sinais clínicos podem ocorrer de maneira sequencial, simultânea ou isolada e muitos fatores contribuem para a variação no desencadeamento dos sintomas da cinomose canina, tais como, condições ambientais, idade e o estado imunológico do paciente.

O período de incubação dura cerca de uma semana, mas pode estender-se por quatro semanas ou mais, quando os sinais nervosos aparecem sem evidência prévia (QUINN et al., 2005).

Os sintomas mais recorrentes observados em pacientes são, secreções oculares e nasais, hiperqueratose dos coxins digitais e dermatite pustular, tosse úmida, dispneia, febre, anorexia, diarreia, rinite, broncopneumonia, congestão conjuntival discreta ou conjuntivite. Em alguns casos, nota-se a presença de manchas com coloração amarronzada que podem ser vistas contornando o esmalte dentário em animais que foram infectados quando filhotes, devido ao acometimento das células produtoras do esmalte (ARNS et al., 2012).

De acordo com Vandavelde e Cachin (1992), 50% dos pacientes apresentam sinais sistêmicos antes ou simultâneos aos neurológicos e esses sinais vão variar de acordo com a área do Sistema Nervoso Central envolvida, podendo ser classificadas como encefalite

aguda, encefalite não supurativa e encefalite crônica (TAYLOR, 2003). O início da sintomatologia nervosa ocorre de acordo com Hoskins (2004) entre uma a três semanas após recuperação da doença.

Os sintomas da encefalite aguda podem surgir com uma série de manifestações como mioclonismo, ataques de “mascar borracha”, ataxia, incoordenação, locomoção em círculos, hiperestesia, rigidez muscular, vocalização similar a do estado de dor, respostas de temor e cegueira (NELSON e COUTO, 2010). Na encefalite não supurativa, alguns sintomas neurológicos podem ocorrer semanas ou meses após a recuperação de infecções inaparentes, ou depois da recuperação de uma cinomose aguda (BAUMANN, 1999; TAYLOR, 2003; SHERDING, 2008).

4.7 Diagnóstico

O diagnóstico geralmente é feito através dos sinais clínicos do animal, baseando-se no histórico de vacinação, juntamente com o exame físico e laboratoriais que, às vezes, é inconclusivo, pois o mesmo padrão também pode ser encontrado em outras doenças infecciosas e parasitárias de cães (BARBOSA et al., 2008).

No caso do diagnóstico laboratorial, o vírus pode ser detectado através de diversas amostras biológicas como urina, sangue total, saliva, secreções respiratórias, fezes e o líquor, porém a urina tem sido a amostra de eleição devido à alta quantidade viral e por ser um método de colheita não invasivo (GEBARA et al., 2004; AMUDE et al., 2007; NEGRÃO et al., 2007).

Alguns testes utilizados também para o diagnóstico é o teste de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), imunofluorescência (exame de anticorpos fluorescentes), soroneutralização e RT-PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa). De acordo com Brandão (2005), os testes tipo ELISA, detectam anticorpos anti-cinomose, sendo utilizados para os animais não vacinados ou que não estão mais recebendo os anticorpos maternos.

O prognóstico é ruim em casos mais avançados, com graves lesões entéricas, que podem causar a morte, e também para os casos onde já se instalaram os sinais nervosos,

pois a fase nervosa é comumente progressiva, e deixam sequelas que podem ser inabilitantes (SILVA e ZANINI, 2005).

4.8 Tratamento convencional

Para Sherding (2003), o tratamento da cinomose deve ser de suporte e sintomático, visando melhorar a resistência do animal, fortalecer o organismo e evitar as infecções secundárias, porém a sua recuperação e sobrevivência depende mesmo do animal ter uma resposta imunológica suficientemente boa para combater o vírus (AMARAL, 2005).

O tratamento pode variar de acordo com os sintomas apresentados pelo animal, mas são comumente administrados, antimicrobianos de amplo espectro para casos de enfermidades bacterianas concomitantes, antieméticos, anticonvulsivantes, em casos de convulsão, suplementação vitamínica e mineral e de acordo com Brito (2010), também é descrito na literatura o uso de antivirais, como a ribavirina, associada ao dimetilsulfóxido (DMSO) que tem função anti-inflamatória.

Os cuidados de enfermagem são de extrema importância, pois aumentam as possibilidades de recuperação e a qualidade de vida do paciente, consistindo em fluidoterapia, suporte nutricional adequado, manutenção de olhos e narizes sempre limpos de descargas e constante higienização do local onde o animal é mantido (SANTOS, 2006).

4.8.1 Tratamento alternativo relacionado às sequelas neurológicas

Terapias alternativas também vêm sendo utilizadas na tentativa de auxiliar na recuperação do paciente, como a acupuntura e a administração de células-tronco (GREENE, 2006; FOGANHOLLI e FILADELPHO, 2007; BRITO et al., 2010; MELLO et al., 2014).

Cerca de 30% dos animais que se recuperam da cinomose apresentam sequelas neurológicas, e o uso de células-tronco para minimizar esses sinais demonstra ser promissor, visto que, essas células podem adquirir tanto a morfologia, como a

funcionalidade das células danificadas ao serem introduzidas, resultando na regeneração do tecido lesionado (TANNA e SACHAN, 2014).

4.9 Prevenção e controle

De acordo com Arns (2012) para a prevenção contra o vírus da cinomose canina, é indispensável a imunização através da vacinação, tendo em vista que, uma vez que a ausência de vacinação pode aumentar em aproximadamente cem vezes a ocorrência da doença em cães (MARTINS; LOPES; FRANÇA, 2009).

A imunidade da vacinação contra a cinomose é sólida e prolongada, mas não dura necessariamente a vida toda. Recomendam-se reforços de vacinação a cada 1-3 anos, dependendo do nível de risco de exposição (SHERDING, 2003). O protocolo vacinal indicado pela literatura consiste na aplicação de 3 doses vacinais no filhote, iniciando-se entre seis a oito semanas de idade, em intervalos de 21 a 31 dias e vacinações anuais como reforço, pois cães adultos podem desenvolver a doença (MONTI, 2004), uma vez que o título de anticorpos terá declinado a níveis não protetores em até um terço dos cães (SANTOS, 2006).

5. FUNDAMENTOS SOBRE CÉLULAS-TRONCO

5.1. Introdução às células-tronco

Células-tronco são células indiferenciadas que possuem a notável capacidade de auto regenerar e habilidade de se diferenciar em diferentes tipos celulares potencialidade e estão presentes tanto em todos os estágios da vida (embrionário, fetal e adulto) (KOLIOS e MOODLEY, 2013).

Propriedades variam entre as várias células-tronco e possuem diversas classificações baseadas em suas diferentes habilidades. São classificadas quanto ao seu potencial de diferenciação e sua origem (ILIC e POLAK, 2011).

5.2. Classificação das células-tronco

5.2.1. Potencial de ação

As células-tronco são classificadas quanto ao seu potencial de ação em cinco grupos hierárquicos de potencial de diferenciação. As células totipotentes ou onipotentes são as mais indiferenciadas, duas primeiras células após o oócito podem se diferenciar em tecidos embrionários e extra-embrionários.

As células pluripotentes são derivadas da massa inicial presente no blastocisto e elas podem se diferenciar em qualquer tipo de tecido, ou seja, podem formar as três camadas germinativas. Já as células multipotentes são encontradas em vários tecidos e podem se diferenciar em apenas uma camada germinativa, uma das multipotentes mais conhecidas são as células embrionárias mesenquimais (CEM),(KOLIOS e MOODLEY, 2013).

Algumas delas se diferenciam em apenas dois ou mais tipos de linhagens celulares, são as células-tronco oligopotentes. As células-tronco onipotentes se auto regeneram e se diferenciam apenas em um tipo celular.

5.2.2. Origem

Quanto a sua origem, as células-tronco podem se dividir em cinco categorias (ILIC e POLAK, 2011), descritas a seguir.

5.2.2.1. Células tronco embrionárias (CTE)

No início do processo de embriogênese, o zigoto passa por sucessivas clivagens até formar uma mórula de blastômeros. Os blastômeros iniciam a secreção de fluido para o

interior desse embrião formando a blastocela, que possibilita a formação de uma camada externa celular, o trofoblasto e uma pequena camada de células no interior, dando origem ao blastocisto (MONTANARI, 2013). As células-tronco embrionárias são originárias da massa interna dos blastocistos. Nesse estágio, as células são indiferenciadas pela presença de fatores de restrição (KOLIOS e MOODLEY, 2013).

5.2.2.2. Células tronco adultas

As células-tronco adultas, que são obtidas a partir de tecidos adultos, incluindo as MSCs e células-tronco derivadas de tecido placentário. Essas células têm propriedades anti-inflamatórias e promovem a reparação em modelos animais de lesões, embora tenham capacidade limitada de diferenciação em diferentes tipos de tecidos. Uma vantagem das células-tronco adultas é que elas não causam rejeição nem levantam questões éticas quando usadas em transplantes. Estudos mostram que o transplante de células-tronco adultas pode restaurar órgãos danificados, como osso e tecido cardíaco isquêmico, através da diferenciação celular e geração de novas células especializadas. Além disso, essas células secretam moléculas com propriedades anti-apoptóticas, imunomoduladoras, angiogênicas e quimiotáticas que promovem a reparação (KOLIOS e MOODLEY, 2013).

5.2.2.3. Células-tronco de pluripotência induzida (CTPI)

As células-tronco de pluripotência induzida (CTPI) são células somáticas induzidas por meio de quatro fatores de transcrição específicos, - Yamanaka's cocktail-, a se comportarem como células-tronco embrionárias, apresentando os mesmos padrões de morfologia, expressão gênica, proliferação, e podem se diferenciar em tipos celulares das três camadas germinativas *in vitro* (KOLIOS e MOODLEY, 2013). Os benefícios da utilização das células-tronco de pluripotência induzida tipo são a redução de rejeição celular pelo sistema imune e a facilidade de estudo de doenças crônicas diminuindo implicações éticas. Todavia, a utilização de um oncogene (c-Myc) como fator de restrição somado a utilização de vetores retrovirais inviabiliza testes clínicos devido ao desenvolvimento de

cânceres. Além desses fatores, as CTPI possuem baixa eficiência de reprogramação associada a memória epigenética celular (GOMES et al, 1992).

5.3. Importância e aplicações das células tronco em medicina e pesquisa

Células-tronco desempenham um papel fundamental em medicina e pesquisa. Suas características únicas têm aplicações diversas. As células-tronco embrionárias ajudam a entender o desenvolvimento humano, enquanto as células-tronco pluripotentes induzidas oferecem opções terapêuticas. A regeneração de tecidos é uma perspectiva empolgante, e as CTPI's são valiosas para estudar doenças. A terapia com células-tronco mostrou sucesso em várias doenças, incluindo diabetes, leucemia e fibrose pulmonar. Também ajudam em condições inflamatórias. No entanto, desafios persistem, como imunorrelação e questões éticas. CTPI's podem abordar dilemas éticos na pesquisa médica.

6. TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO PARA O TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS

6.1. Introdução à Terapia com Células-Tronco

A terapia com células-tronco têm emergido como uma abordagem altamente promissora no tratamento de uma variedade de doenças inflamatórias e degenerativas. Estudos recentes (BRITO et al., 2015; SANTOS et al., 2018; GUGJOO et al., 2019; BYDLOWSKI et al., 2009; MARCONI et al., 2013; SPEES et al., 2016) tem destacado sua eficácia na restauração do funcionamento de tecidos e órgãos, promovendo a integridade celular e a reposição de células danificadas por células saudáveis, resultando em uma notável regeneração e reparação de tecidos (BRUNO e SOUZA, 2019). Esta capacidade de renovação ocorre por meio da divisão celular (mitose) em algum momento do seu desenvolvimento, assegurando um número adequado de CT em determinado local do organismo (BRUNO e SOUZA; 2019).

Na medicina veterinária, a terapia com células-tronco desempenha um papel significativo e crescente. Suas propriedades estimulantes de regeneração tornam-na um

tratamento natural e eficaz para uma variedade de doenças, incluindo aquelas que, anteriormente, eram desafiadoras de tratar (Dernell, W. S., Lascelles, B. D., & Devitt, C. M., 2007). Com um potencial terapêutico abrangente, essa abordagem oferece esperança e oportunidades inovadoras para melhorar a qualidade de vida de animais afetados por condições debilitantes, como as sequelas neurológicas resultantes da cinomose.

6.2. Uso células troncos em sequelas do sistema nervoso

6.2.1. Sistema nervoso

O Sistema Nervoso é notavelmente complexo em sua estrutura e funções. Ele se divide em duas grandes áreas: o Sistema Nervoso Central (SNC) e o Sistema Nervoso Periférico (SNP). O SNC, em grande parte, desempenha um papel fundamental no armazenamento da memória. Por outro lado, o SNP recebe estímulos sensoriais de todo o corpo e os direciona para partes superiores do tecido, além de retransmitir os sinais no sentido contrário (GUYTON & HALL, 2002).

O SNC é composto por três conjuntos distintos de células, a saber: neurônios, células da glia e células da micróglia. Os neurônios, mais de 32 tipos distintos, possuem funções e características morfológicas variadas. Entre eles, destacam-se os neurônios motores da medula espinhal e os neurônios principais dos gânglios simpáticos (KIERNAN, 2003).

A transmissão de impulsos nervosos realizada pelos neurônios é essencial para todo o processo de armazenamento e estimulação sensorial. Isso é possível graças às sinapses que ocorrem entre bilhões de células que constituem o sistema nervoso. Essas sinapses podem ser de dois tipos principais: químicas, que envolvem a liberação de neurotransmissores, e elétricas, nas quais a eletricidade é conduzida por canais iônicos diretamente para a célula mais próxima (GUYTON & HALL, 2002).

As células da glia, incluindo astrócitos, oligodendrócitos e células epidimárias, desempenham funções vitais no SNC. Os astrócitos preenchem os espaços entre os neurônios, fornecendo suporte físico e auxiliando na absorção de neurotransmissores pós-sinápticos. Os oligodendrócitos sintetizam e mantêm a bainha de mielina dos axônios no SNC, enquanto as células de Schwann executam essa função nos nervos periféricos. As

células epidimárias fazem parte do epitélio que reveste o sistema ventricular e podem ser subdivididas em diferentes tipos (KIERNAN, 2003).

As células da micróglia, embora menos evidentes, também desempenham um papel crucial ao atuarem como macrófagos do sistema nervoso, protegendo o tecido contra microrganismos e adquirindo propriedades fagocíticas (KIERNAN, 2003).

O SNC é organizado em várias regiões, incluindo a medula espinhal, mesencéfalo, ponte, cerebelo, diencéfalo (incluindo o hipotálamo) e telencéfalo. Cada uma dessas regiões desempenha papéis específicos no controle das vias sensitivas e em processos complexos, como a acumulação de informações em níveis intelectuais (KIERNAN, 2003).

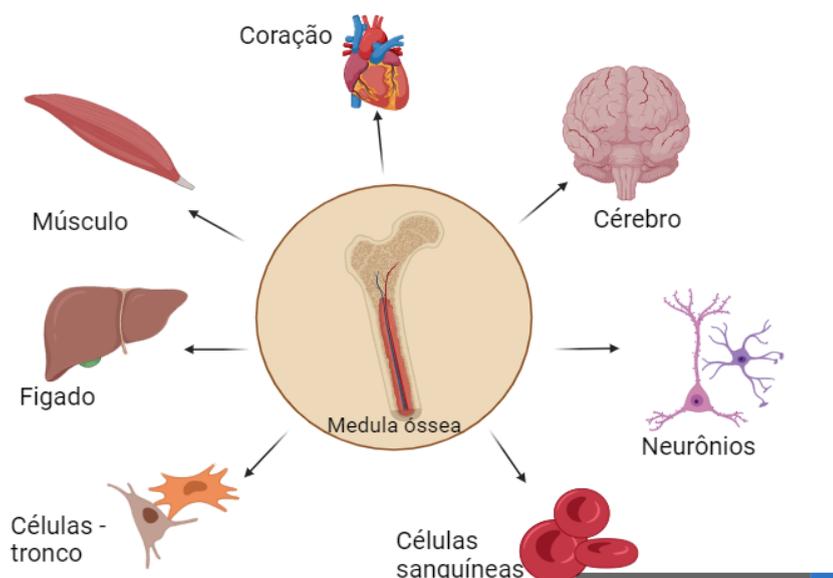
6.2.2. Células-tronco mesenquimais

As células-tronco mesenquimais (CTM) podem ser conhecidas também como células do estroma medular ou unidades formadoras de colônias fibroblásticas. Trata-se de CT não hematopoiéticas multipotentes que aderem as placas de cultura e podem se regenerar em tecido ósseo, tendão, cartilagem, tecido adiposo e conjuntivo (BYDLOWSKI et al., 2009).

Essa teoria surgiu em meados de 1970, quando Friendesteinel et al. (1974) descobriu que essas células aderem a placa de cultura e se assemelham a fibroblastos. Além disso, em condições adequadas de cultivo, as CTM exibem diferenciação em tipos celulares distintos e auto-renovação (NARDI e MERELLES, 2006).

As CTM podem ser extraídas da medula óssea e espinhal, vasos sanguíneos, cordão umbilical, músculos esqueléticos, tecido adiposo, entre outras (FIGURA 2). Porém a medula óssea é o local de eleição para o isolamento, por ser de fácil acesso e possuir grande quantidade celular (OLIVEIRA et al., 2010). Entretanto, já existem pesquisas usando CT isoladas do tecido adiposo e estas têm recebido atenção especial devido à facilidade de coleta, abundância e potencial regenerativo, sendo facilmente obtidas, muitas vezes do próprio paciente, tendo vantagem de não induzirem resposta inflamatória exuberante no hospedeiro transplantado, permitindo assim, transplantes alogênicos. (REQUICHA et al., 2012; MARX et al., 2014; SHIH et al., 2011).

Figura 3: Esquema de obtenção de CTM a partir de medula óssea e a capacidade de diferenciação em diversos tecidos. MODIFICADA.



Fonte: Marques, 2016.

Há evidências de que um dos efeitos benéficos das CTM recrutadas por tecidos lesados ocorre devido um mecanismo parácrino (YALVAC et al., 2009). Em tais mecanismos incluem a produção de quantidades significativas de citocinas e fatores de crescimento com diferentes ações na lesão tecidual, incluindo prevenção de apoptose, citoproteção de células viáveis, efeitos anti-inflamatórios, entre outros (TAKAHASHI et al., 2006). Os fatores secretados produzem uma série de respostas no microambiente medular e no sistema imune local, além de potencializar a angiogênese, e induzir a proliferação e diferenciação de CT teciduais (CAPLAN e DENNIS, 2006).

Uma das características fundamentais que ocorre na CTM é sua capacidade imunomoduladora, o que as tornam foco de atenção terapêutica. No entanto, os mecanismos envolvidos nessa propriedade não estão totalmente elucidados. Diante sua interação com o tecido ao serem transplantadas, as CTM desencadeiam a liberação de citocinas anti-inflamatória e a reparação tecidual (MONTEIRO et al., 2010). A propriedade imunomoduladora apresentadas pelas CTM varia de acordo com a fonte de obtenção das CTM, com o número de passagens em cultura, com a dosagem de administração e condição patológica do paciente (MA et al., 2014).

Paul e Anisimov (2013) evidenciaram que as CTM adultas possuem capacidade de migrar para áreas lesadas, como por exemplo, áreas de hipóxia, apoptóticas ou inflamadas. O papel fundamental dessas células é, como citado anteriormente, repor aquelas que morrem por apoptose, fenômeno principalmente visível em tecidos como a pele e o sangue. Outra função das CT envolve a recuperação de lesões não fisiológicas, isto é, morte de células por acidentes ou agentes patogênicos (NARDI, 2007).

Essas características fazem com que estas células possam ter um grande potencial em várias aplicações terapêuticas, como participar da regeneração tecidual, corrigir distúrbios hereditários e reduzir a inflamação crônica (VOSWINKEL et al., 2013).

6.2.3. Protocolo de Terapia Celular

6.2.3.1. Origem

As células-tronco utilizadas no protocolo podem ser coletadas do próprio cão afetado (autólogas) ou de um cão doador saudável (aloenxerto). A escolha depende da disponibilidade e da condição do paciente, bem como das considerações médicas, visando obter os melhores resultados no tratamento.

6.2.3.2. Isolamento

No processo de isolamento, as células são cuidadosamente separadas do tecido doado. O tecido é lavado para remover resíduos e impurezas. Em seguida, ele é exposto a enzimas específicas, como a hialuronidase, para realizar a digestão do tecido. Essa etapa é crucial para liberar as células-tronco do tecido circundante e prepará-las para o próximo estágio do protocolo de terapia celular.

6.2.3.3. Caracterização

O próximo passo após o isolamento das células-tronco é a caracterização. Nesse estágio, as células são cuidadosamente avaliadas quanto às suas propriedades e características. Isso inclui a análise de sua identidade, pureza, vitalidade e potencial de diferenciação. Esses parâmetros ajudam a garantir que as células-tronco utilizadas sejam adequadas para o tratamento proposto, fornecendo informações essenciais sobre sua qualidade.

6.2.3.4. Aplicação

A etapa de aplicação é crucial no protocolo de terapia celular. Após a caracterização das células-tronco, elas são preparadas para serem reintroduzidas no paciente. O método de aplicação pode variar, mas geralmente envolve a administração das células-tronco diretamente no local afetado ou por via intravenosa. A escolha do método depende das características da lesão e das metas terapêuticas. A administração cuidadosa das células-tronco visa proporcionar os melhores resultados terapêuticos, promovendo a regeneração do tecido neural danificado e melhorando a condição do paciente.

Para definirmos a melhor via deve-se levar em consideração características básicas como ser de fácil realização, pouco invasiva e traumática, causar mínimos efeitos colaterais apresentando a maior taxa de retenção e sobrevivência de células infundidas. É importante ressaltar que fatores adicionais como diagnóstico e prognóstico da doença, localização da região injuriada e extensão da lesão devem ser levados em consideração (SANTOS, 2019).

A quantidade de aplicações pode variar conforme a idade do animal, podendo ser feito até três aplicações (VANDEVELDE; ZURBRIGGEN et al., 2005; SILVA et al., 2009).

Os estudos clínicos conduzidos por Gonçalves et al. (2018), Brunel et al. (2022), e Santos et al. (2015) exploraram a eficácia da terapia celular utilizando células-tronco mesenquimais alogênicas no tratamento de cães com sequelas neurológicas de diversas etiologias, com foco especial em casos de cinomose crônica.

Gonçalves et al. (2018) realizaram um estudo com sete cães com sequelas neurológicas de cinomose, aplicando três infusões de células-tronco mesenquimais (CTM) com intervalos de 15 dias. Cada infusão continha $5,0 \times 10^6$ células em 3,0 mL de PBS. Os

resultados demonstraram que essa abordagem terapêutica se mostrou eficiente, sugerindo ser uma opção promissora para o tratamento de cinomose crônica.

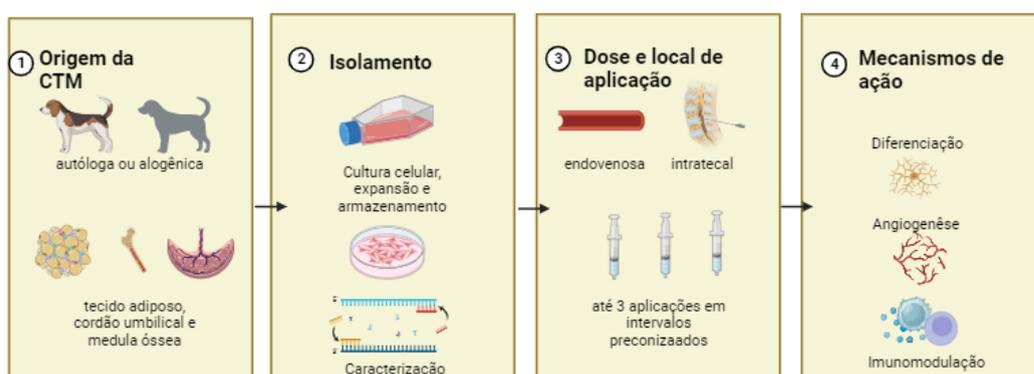
Em um estudo subsequente conduzido por Brunel et al. (2022), 14 cães com sequelas neurológicas receberam tratamento com CTMs alogênicas provenientes de um banco de células. Os resultados deste estudo mostraram uma redução significativa das crises epilêpticas e da mioclonia, além da recuperação da habilidade de andar sem assistência ao final do tratamento.

Por sua vez, Santos et al. (2015) abordaram o tratamento de quatro cães com sequelas neurológicas, utilizando células-tronco obtidas do tecido adiposo, variando de 5×10^6 a 10×10^6 células-tronco. A administração foi realizada via intravenosa (veia periférica) em três sessões, com intervalos de 21 a 30 dias entre cada uma. O relato de caso indicou uma melhora significativa nos sintomas neurológicos, incluindo a diminuição dos episódios de mioclonia e a remissão dos episódios convulsivos em um dos cães após três meses de terapia celular.

Esses estudos clínicos ressaltam o potencial da terapia celular com células-tronco mesenquimais alogênicas como uma abordagem terapêutica promissora no tratamento de cães com sequelas neurológicas, especialmente em casos de cinomose crônica, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida desses animais.

Figura 4: Esquema do processo de terapia celular

Processo de terapia celular com células tronco mesenquimais



Fonte: Autoria própria. Designer criado com o Bio Render.

6.6. Células-Tronco e Neuroregeneração

As doenças neurológicas, muitas vezes devastadoras, têm sido alvo de intensa pesquisa em busca de terapias inovadoras que possam aliviar os sinais clínicos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (MONTEIRO, 2017). Nesse contexto, as células-tronco surgem como uma terapia promissora para a regeneração de tecido neural danificado.

A medicina regenerativa, um ramo da medicina que se dedica ao desenvolvimento de métodos para cultivar, reparar ou substituir células, órgãos e tecidos doentes ou danificados, tem se destacado como uma abordagem promissora para tratar doenças neurológicas (VOGA, 2020).

A regeneração de tecido neural é um processo complexo, envolvendo uma rede intrincada de sinais celulares e moleculares que são ativados imediatamente após uma lesão e continuam ao longo do tempo. Essa regeneração é um processo frequentemente lento e incompleto, mas crucial para a recuperação neurológica (BOSCH & SMITH, 2005; MARTINS et al., 2005).

Um dos desafios biológicos na regeneração neural envolve a resposta das células próximas à lesão, a regeneração do axônio e sua capacidade de navegar em um ambiente celular e molecular complexo. Alterações também ocorrem no segmento do nervo distal cronicamente denervado e no órgão alvo distal à lesão (MIDHA & ZAGER, 2008).

O processo de regeneração neural é notavelmente lento, com os brotos axonais, conhecidos como cones de crescimento, crescendo a uma taxa de cerca de 1-2mm por dia, o que equivale a aproximadamente um centímetro por mês. Esses cones de crescimento são ricos em mitocôndrias e componentes do citoesqueleto e se orientam em direção aos órgãos alvos sob a influência de fatores tróficos, quimiocinas e proteínas de adesão celular produzidas no local da lesão. Quando estabelecem conexões adequadas com os órgãos alvos, ocorre a formação de uma nova bainha de mielina, mais fina e com mais internodos em comparação com a bainha original (MURRAY, 2005).

A última etapa crítica do processo de regeneração neural envolve a formação de conexões efetivas com os órgãos alvos, incluindo a formação da placa motora ou das terminações de receptores sensoriais (MURRAY, 2005).

Novas estratégias no reparo de lesões nervosas periféricas baseiam-se em descobertas avançadas a nível celular e molecular, visando melhorar os resultados clínicos. Isso inclui a exploração do conhecimento emergente sobre fatores de crescimento neurotróficos e a terapia com células-tronco. O objetivo é possibilitar uma regeneração mais precisa e rápida, com o potencial de melhorar significativamente os desfechos clínicos. Esses avanços estão redefinindo conceitos e abordagens na reparação de nervos periféricos (MIDHA & ZAGER, 2008).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos cinco estudos, apenas um apresentou alta taxa de mortalidade após a utilização de CTMs, possivelmente devido ao fato de terem sido administradas na fase aguda da infecção. A aplicação intratecal, com o objetivo de evitar a dispersão das células em áreas indesejadas, foi adotada por apenas um autor (Monteiro, 2017), enquanto os demais estudos administraram as CTMs por via endovenosa, tanto na veia cefálica quanto na periférica (palmares ou plantares). A aplicação de células-tronco mesenquimais (CTMs) tem demonstrado ser promissora em diversos estudos, evidenciando melhorias significativas nos sintomas neurológicos.

A variação nos métodos, doses e origens das CTMs destaca a necessidade premente de estabelecer padrões, a fim de proporcionar uma compreensão mais precisa da eficácia e segurança dessas intervenções. Resultados discrepantes, como a alta taxa de mortalidade observada em um estudo específico, ressaltam a importância crucial de conduzir pesquisas pré-clínicas robustas. Em resumo, embora existam indícios encorajadores, a pesquisa nesse domínio precisa abordar questões fundamentais, incluindo a padronização de protocolos e uma análise mais aprofundada dos mecanismos subjacentes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNS, C.W et al. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2ª ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2012. p. 759-792.
- ELIA, G; BELLOLI, C; CIRONE, F; LUCENTE, M. S; CARUSO, M; MARTELLA, V; DECARO, N; BUONAVOGLIA, C; ORMAS, P. **In Vitro Efficacy of Ribavirin Against Canine Distemper Virus**. Elsevier, 2007. Antiviral Research 77 (2008), p. 108 - 113. doi:10.1016/j.antiviral.2007.09.004.
- BERALDI et al. **Uso de células-tronco no tratamento de sequelas neurológicas causadas pela cinomose**. Rev. cient. eletrônica med. vet. p. 1 - 7, 2022.
- BRITO, H. F et al. **Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante alogênico de células mononucleares de medula óssea**. Revista Científica de Medicina Veterinária-Pequenos Animais e Animais de Estimação, 8(24), p. 27–29, 2010.
- CORREA, W. M.; CORREA, C. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992.
- DANTAS, Cristiane Nascimento. **tratamento com células tronco mesenquimais em cães com paresia como sequela neurológica da infecção pelo vírus da cinomose**. FAV-UNB. Brasília, 2019.
- DIAS et al. **Cinomose canina: revisão de literatura**. Medicina Veterinária (UFRPR), v. 6, n. 4 p. 32 - 40. Recife, 2012.
- GEBARA, C.M.S.R et al. **Deteção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 56(4): p. 480-487, 2004.
- HAMZÉ, Abdul; PACHECO, Alessandro; BÉRGAMO, Mayara; JUNIOR, Osvaldo; DOTTA, Sílvia; SACCO, Soraya; FILADELPHO, André. **Células-tronco na medicina veterinária**. FAMED/FAEF. São Paulo, 2009.
- HOSKINS, J. D. **Doenças Virais Caninas**. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária - Doenças do cão e do gato**. 5ª. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, p.440-445.
- KOLIOS, George; MOODLEY, Yuben. **Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine**. Thematic Review Series, 2013.
- KRULESKE, Carolina; CAMARGO, Edson. **Mecanismos envolvidos na regeneração de lesões nervosas periféricas**. Revista Saúde e pesquisa. v. 3, n. 1, p. 93 - 99, 2010.

LEMPP, C et al. **New aspects of the pathogenesis of canine distemper leukoencephalitis.** *Viruses*, 6(7): p. 2571-2601, 2014.

MACHADO, Rafaela Paiva. **Células-tronco no tratamento de animais com sequelas neurológicas ocasionada pela cinomose.** UNICEPLAC. Gama - DF, 2019.

MAGIA, Simone Henrique; PAES, Antonio Carlos; **Neuropatologia da Cinomose.** *Veterinária e Zootecnia*. v. 15, n. 3, p. 416 - 427, 2008.

MAGIA, Simone Henriques. **Tratamento experimental de cães naturalmente infectados com o vírus da cinomose na fase neurológica com uso de ribavirina e dimetil-sulfóxido (DMSO).** UNESP. Botucatu, 2008.

MONTEIRO, Bianca Andriolo. **Efeitos da terapia com células tronco mesenquimais em afecções do sistema nervoso de cães.** UNESP. Botucatu, 2017.

MONTI, F. S. **Anticorpos contra o vírus da cinomose em cães vacinados em diferentes estabelecimentos da área urbana do município de Viçosa/MG. 2004.** Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

MORAES, F.C. et al. **Diagnóstico e controle da cinomose canina.** *PUBVET*, Londrina, V. 7, N. 14, Ed. 237, Art. 1566, Julho, 2013.

NEGRÃO, F.J et al. **Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para detecção ante mortem do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(1): p. 253-257, 2007.

PAIM, Luísa Lovato; COSTA, Júlia Mariano; CONSUL, Priscila Machado. **Atualidades no uso de células-tronco para o tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose canina.** *Med. Veterinária e Zootecnia*. v. 16, n. 05 a 1122, p. 1 - 4, 2022.

PEREIRA, Liana; QUEIROZ, Paulo. **Terapia celular em tratamento de doenças do sistema nervoso.** *Universitas*. v. 11, n. 1, p. 29 - 41, 2013.

PORTELA, Vanessa; LIMA, Thais; MAIA, Rita. **Cinomose canina: revisão de literatura.** *Medicina Veterinária (UFRPE)*, v. 11, n. 3, p. 162 - 171. Recife, 2017.

SHERDING, R.G. **Cinomose canina.** In: BICHARD, D.V.M; SHERDING, R.G. **Manual Saunder: clínica de pequenos animais.** 3.ed. São Paulo: Roca, p. 2048, 2008.

SILVA, Ana Paula. **Cinomose canina e tratamento de sequelas neurológicas com células tronco.** UNIS, Minas Gerais, 2021.

SONNE et al. **Achados patológicos e imuno-histoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina.** *Pesq. Vet. Bras*, 29(2):00-00, 2009.

ZHAO, Jianjun; REN, Yanrong. **Multiple Receptors Involved in Invasion and Neuropathogenicity of Canine Distemper Virus: A Review.** *Viruses*. 2022.