

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

GABRIELLE FORLI

**CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO
DE LESÃO MEDULAR EM CÃES**

CAMPINAS

2020

GABRIELLE FORLI

**CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO
DE LESÃO MEDULAR EM CÃES**

Trabalho de conclusão de curso,
apresentado como exigência para
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária na Pontifícia
Universidade Católica de Campinas.

Orientadora: Prof. Dra. Mariana
Santos de Miranda.

PUC-CAMPINAS

2020

Ficha Catalográfica elaborada por Fabiana A Bracchi CRB 8/10221

Sistema de Bibliotecas e Informação – SBI – PUC-Campinas

Forli, Gabrielle

Células-tronco mesenquimais no tratamento de lesão medular em cães / Gabrielle Forli. -
Campinas: PUC-Campinas, 2020.

Orientador: Mariana Santos de Miranda.

TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Centro de
Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2020.

1. Células tronco mesenquimais. 2. Lesão medular. 3. Tratamento. I. Miranda, Mariana
Santos de . II. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida.
Faculdade de Medicina Veterinária. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

GABRIELLE FORLI

**CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO
DE LESÃO MEDULAR EM CÃES**

Trabalho de Conclusão de Curso
aprovado como requisito para
obtenção do grau de Bacharel no
Curso de Graduação em Medicina
Veterinária, Faculdade de Medicina
Veterinária, Pontifícia Universidade
Católica de Campinas – PUC-
Campinas, pela banca examinadora:

Professor(a)-Orientador(a): _____
Prof. Dra. **Mariana Santos de Miranda**
Faculdade de Medicina Veterinária
PUC-Campinas

Membro: _____
Prof. Dra. **Michele Andrade de Barros**
Faculdade de Medicina Veterinária
PUC-Campinas

Membro: _____
Prof. Dra. **Neusa Maria Osti**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
PUC-Campinas

Campinas

2020

Dedico este trabalho à minha mãe, por ter me apoiado em todo o trajeto da graduação, me incentivando a sair da minha zona de conforto, me confortando em todas as ansiedades e me dando forças nas dificuldades que enfrentei pelo caminho. Sem ela, não conseguiria ter chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, Leonice Barbieri, minha razão de vida, minha base e minha inspiração. Obrigada por me incentivar a seguir meu sonho e me apoiar durante todos esses anos, independentemente das minhas decisões. Obrigada pela paciência, pela compreensão, e pela preocupação, pois com sua presença e com sua força extrema, a jornada ficou mais leve, e resistir às ansiedades e dificuldades da graduação foi mais fácil. Eu te amo muito.

Agradeço à toda minha família pela força e ajuda que me deram da melhor forma que podiam.

Sou extremamente grata à Luciana Ribeiro, que me acompanhou por muitos anos, desde o ensino fundamental até o ensino médio. Ela me ensinou a ser uma aluna dedicada e organizada, a desacelerar e a levar uma vida mais equilibrada, com momentos de estudo, porém nunca esquecendo do descanso, da companhia da família e da importância de se cultivar os amigos. Me apoiou em todas as minhas escolhas, me ensinou a acreditar em mim mesma e que sou capaz de realizar todos os meus sonhos.

Agradeço à Dra. Letícia Ghilardi, que, há mais de 20 anos, me inspira e me apoia a seguir essa maravilhosa profissão, por sempre demonstrar grande carinho por todos os cães que já tive e por todos os seus pacientes. Sou imensamente grata pela oportunidade de ter estagiado e aprendido muito com ela.

Agradeço à minhas amigas Anna Giulia de Carvalho, Fernanda Reis e Bruna Tasca por ouvirem minhas reclamações, por compartilharem de todas as angústias, pela ajuda nos momentos de desespero e pelos abraços que acalmaram o coração. À meus colegas de classe da turma I pela convivência durante esse caminho, por compartilharem das mesmas frustrações, pelas experiências divididas, pelas amizades que foram e as que ainda continuarão.

Agradeço a toda a diretoria da Faculdade de Medicina Veterinária da PUC-Campinas e ao diretor João Flávio Panattoni Martins pela paciência e pela persistência, pois em momento algum desistiu de nós, mesmo com todas as turbulências e reviravoltas que enfrentamos sendo a primeira turma.

Sou muito grata às minhas professoras que ajudaram a moldar a base de minha formação na graduação. À minha professora e orientadora Mariana

Santos de Miranda pelo suporte, pela consideração, e, principalmente, pela paciência durante todo o processo. À minha professora e co-orientadora Michele Andrade de Barros, pelo acolhimento, pelo amparo, pelos conhecimentos compartilhados e por se tornar minha maior inspiração. À professora Neusa Maria Osti por me introduzir à área de imunologia, que se tornou minha paixão. E à minha professora Marta Luppi pelo apoio, carinho e por acalmar meu coração nos momentos em que nada dava certo.

Agradeço aos meus professores, que durante toda a graduação, me ajudaram e me prepararam para chegar até aqui, por sentirem minhas angústias, por se disponibilizarem a me ajudar a qualquer momento e pelo suporte dado durante muitas reviravoltas.

E por fim, agradeço a todos aqueles, embora não citados aqui, que contribuíram na realização desse trabalho, de maneira direta ou não.

**“Não deixe que os seus medos
tomem o lugar dos seus sonhos.”**

- Walt Disney

RESUMO

A lesão medular em cães, é uma afecção de grande importância na medicina veterinária, pois suas complicações são, geralmente, extensas. Os sinais clínicos da doença são muito abrangentes, pois dependem: do grau da lesão, se agudo, subagudo ou crônico; do local acometido; e de sua progressão. Após o trauma medular, há um processo inflamatório que se instaura no tecido com o objetivo de proteger as células saudáveis restantes, porém esse processo gera grandes consequências como morte de neurônios, estresse oxidativo, a formação de uma cicatriz glial, desmielinização de axônios e, conseqüentemente, perda de função, e entre outros mecanismos. A terapia celular com células-tronco mesenquimais apresentam grande potencial para o tratamento de lesões no sistema nervoso central, pois suas ações diminuem a inflamação tecidual e a formação de fibrose, providenciam neuroproteção e estimulam a migração de outras células, o que promove regeneração do tecido neural. O objetivo dessa revisão de literatura foi a coleta de dados que comprovem a ação benéfica das células-tronco em lesões medulares para que o tratamento possa ser considerado alternativo às terapias convencionais.

Palavras-chave: células-tronco mesenquimais; lesão medular; tratamento.

ABSTRACT

Spinal cord injury in dogs is a condition of great importance in the veterinary medicine, as its complications are generally disastrous. The clinical signs of the disease are very embracive, as they depend on the degree of the lesion, whether acute, subacute or chronic, the affected site, and its progression. After spinal trauma, there is an inflammatory process that takes place in the tissue in order to protect the remaining healthy cells, but this process has great consequences such as neuron death, oxidative stress, the formation of a glial scar, demyelination of axons and, consequently, loss of function, and among other mechanisms. Cell therapy with mesenchymal stem cells has great potential for treating lesions in the central nervous system, as their actions reduce tissue inflammation and the formation of fibrosis, provide neuroprotection and stimulate the migration of other cells, which promotes neural tissue regeneration. The purpose of this literature review was to collect data that prove the beneficial action of stem cells in spinal cord injuries so that the treatment can be considered an alternative to conventional therapies.

Keywords: mesenchymal stem cells; spinal cord injury; treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Vista lateral da 13 ^a vértebra torácica de um cão.....	20
Figura 2 – Vista caudal da 13 ^a vértebra torácica de um cão.....	20
Figura 3 – Representação de uma vértebra.....	21
Figura 4 – Representação dos ligamentos da coluna vertebral.....	22
Figura 5 – Diagrama de um nervo espinhal.....	23
Figura 6 – Representação da Medula Espinhal.....	24
Figura 7 - Esquema representativo das células do SNC.....	25
Figura 8 – Representação esquemática do processo de mesengênese.....	30
Figura 9 – Representação esquemática das ações autócrina e parácrina das células-tronco mesenquimais.....	34
Figura 10 – Representação esquemática das citocinas liberadas pelas células-tronco mesenquimais e suas ações.....	36
Figura 11 – Esquema de representação do reparo tecidual pelos mecanismos tróficos.....	37
Figura 12 – Representação esquemática da ativação de macrófagos e da polarização dos macrófagos realizada pelas células-tronco mesenquimais....	40
Figura 13 – Esquema representativo do mecanismo de trauma medular.....	48
Figura 14 – Análise histológica das lesões medulares dos cães.....	54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Comparação do número de vértebras em diferentes espécies de mamíferos domésticos19

Quadro 2 – Resultado clínico do estudo de 34 cães com doença aguda do disco intervertebral e ausência de dor profunda54

SIGLAS E ABREVIações

AF	Anel fibroso
APC	Célula apresentadora de antígeno
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
Breg	De linfócito B regulador
C	Cervical
Cd	Caudal
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CT	Células-tronco
CTA	Células-tronco adultas
CTE	Células-tronco embrionárias
CTM	Células-tronco mesenquimais
COX-2	Ciclooxigenase-2
CV	Coluna vertebral
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FIV	Forames intervertebrais
GF	Do inglês <i>growth factor</i>
HGF	Fator de crescimento hepatóide
IDO	Enzima indoleamine 2,3-dioxygenase
IL	Interleucina
IL1-RA	Receptor antagonista da IL-1
INF	Interferon
INF- γ	Interferon-gama
ISCT	Do inglês <i>International Society for Cellular Therapy</i>
L	Lombar
LB	Linfócito B
LT	Linfócito T
LTCD4	Linfócito T CD4
LTh	Linfócito <i>Helper</i>
LCR	Líquido cefalorraquidiano
M1	Macrófago de classe I
M2	Macrófago de classe II
M-CSF	Fator de crescimento estimulador de macrófagos
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos

ME	Medula espinhal
MHC-I	Complexo de histocompatibilidade de classe I
MHC-II	Complexo de histocompatibilidade de classe II
MPSS	Do inglês <i>methylprednisolone sodium succinate</i>
NGF	Fator de crescimento nervoso
NK	Do inglês <i>natural killer</i>
NO	Óxido nítrico
NP	Núcleo pulposo
NT-3	Neurotrofina-3
PGE-2	Prostaglandina-2
S	Sacral
SLP1	Do inglês <i>secretory leukocyte protease inhibitor</i>
SNC	Sistema nervoso central
T	Torácica
Treg	De linfócito T regulador
TGF-β	Fator de crescimento transformador beta
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VT	Vértebras torácicas

Sumário

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO ANATÔMICA	18
2.1 Coluna Vertebral.....	19
2.2 Medula Espinhal	22
2.3 Células do SNC	24
2.3.1 Neurônios	25
2.3.2 Astrócitos	26
2.3.3 Oligodendrócitos.....	27
2.3.4 Micróglia	27
3 CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS	28
3.1 Definição de Células-tronco Mesenquimais	29
3.2 Ação autócrina e parácrina das CTM	33
3.3 Ação imunomodulatória das CTM	35
3.4 Ação anti-inflamatória das CTM	38
3.5 Ação imunossupressora das CTM	41
3.6 Ação angiogênica das CTM	43
3.7 Ação anti-fibrótica das CTM	44
4 CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NA LESÃO MEDULAR.....	45
4.1 Lesão medular.....	46
4.2 CTM na lesão medular	49
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
7 REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O trauma medular em cães é uma lesão muito frequente na rotina do médico veterinário e possui diversas causas, porém diante de vários tratamentos convencionais, nenhum deles apresenta uma taxa satisfatória de recuperação dos sinais clínicos do animal. A lesão causa severa disfunção e degeneração neural, gerando alterações físicas e comportamentais na vida dos animais, fazendo com que percam sua independência, afetando sua qualidade de vida e de seus tutores (OLBY, 2010; QU; ZHANG, 2017).

O uso de células-tronco (CT) tem se tornado uma área de pesquisa muito desenvolvida, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, imunomodulatórias, anti-fibróticas, anti-apoptóticas e angiogênicas. Por muitos anos, acreditava-se que a célula nervosa era incapacitada de se regenerar, porém, estudos recentes realizados com células-tronco mesenquimais (CTM), mostraram que estas células possuem função de diferenciação, regeneração e reparo tecidual, apresentando então, grande potencial para o tratamento de lesões no Sistema Nervoso Central (SNC) e para a melhora dos sinais clínicos (BYDLOWSKI et al., 2009; MEIRELLES et al., 2009; SONG et al., 2014).

Os estudos que utilizaram as CTM como tratamento de lesões medulares, em maior parte, obtiveram resultados impressionantes, em que os animais responderam muito bem à terapia e apresentaram melhoras clínicas, e até mesmo, recuperação funcional de membros (KIM et al., 2015; UCCELLI et al., 2011).

O SNC, em particular, apresenta características únicas de regeneração tecidual, o que dificulta a reparação das células neurais sem tratamento adequado. O microambiente pós-traumático do tecido nervoso é desfavorável à regeneração, pela liberação de citocinas inflamatórias, inibidores de mielina, presença de astrócitos ativados, oligodendrócitos e pela formação de cicatrizes gliais. Todos esses fatores contribuem para a dificuldade na regeneração neural (KIM et al., 2015; OLBY, 2010; QU; ZHANG, 2017; UCCELLI et al., 2011).

O principal objetivo dessa revisão literária foi coletar dados de diferentes artigos científicos disponíveis em sites de pesquisa como PubMed, Google Scholar, PubVet e entre outros, que comprovam a ação benéfica do tratamento com CTM em lesões medulares, para que sejam consideradas como tratamento alternativo às terapias convencionais, superando assim, as limitações de outros métodos de tratamento.

2 REVISÃO ANATÔMICA

2.1 Coluna Vertebral

A coluna vertebral (CV) está presente em todas as espécies de animais vertebrados, que são: répteis, aves, peixes, anfíbios e mamíferos. Porém, cada espécie possui particularidades, como por exemplo o número de vértebras, como observado no Quadro 1 (DYCE; WENSING; SACK, 2010; KONIG; LIEBICH, 2016).

Quadro 1 - Comparação do número de vértebras em diferentes espécies de mamíferos domésticos.

Vértebras	Cães	Gatos	Equinos	Bovinos
Cervicais	7	7	7	7
Torácicas	13	13	18	13 - 16
Lombares	7	7	5 - 7	6
Sacrais	3	3	5	5
Caudais	20 - 23	18 - 26	15 - 21	18 - 20

Fonte: adaptado de Konig; Liebich (2016, p. 98).

A CV é composta por um conjunto de vértebras cervicais (C), torácicas (T), lombares (L), sacrais (S) e caudais (Cd), unidas por discos intervertebrais e ligamentos, se estendendo do crânio até a cauda do animal. Realiza a função de sustentar o corpo, proteger a medula espinhal e os órgãos internos, como por exemplo os pulmões e os rins (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

Cada conjunto de vértebra tem sua característica morfológica específica, porém a maioria delas compartilha da mesma composição: o corpo da vértebra; o arco, que origina os processos espinhoso, articular, transverso, mamilar e acessório; o forame intervertebral e o forame vertebral; visualizados nas Figuras 1 e 2. O conjunto dos forames vertebrais das vértebras forma o canal vertebral (DYCE; WENSING; SACK, 2010; SMITH, 1999).

Para que as vértebras formem a CV, são necessárias articulações e ligamentos entre elas, que provém estabilidade, mobilidade e sustentação à coluna (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

A principal articulação da CV é a articulação intervertebral, presente entre duas vértebras a partir da C2 até a S3, ela é responsável pela flexibilidade do tronco e movimentação da coluna. Entre as faces articulares caudais e craniais

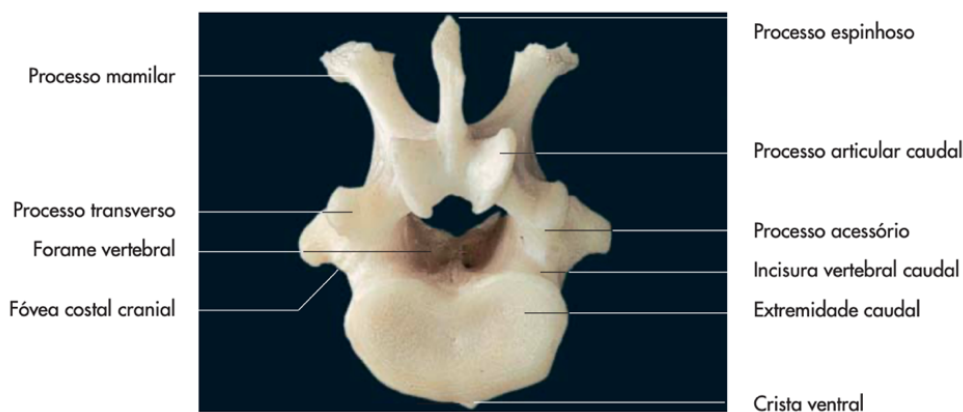
de corpos das vértebras adjacentes, existe o disco intervertebral fibrocartilaginoso, originando a união das vértebras, formando assim a articulação (DYCE; WENSING; SACK, 2010; SMITH, 1999).

Figura 1 - Vista lateral da 13^a vértebra torácica de um cão.



Fonte: König; Liebich (2016, p. 100).

Figura 2 - Vista caudal da 13^a vértebra torácica de um cão.



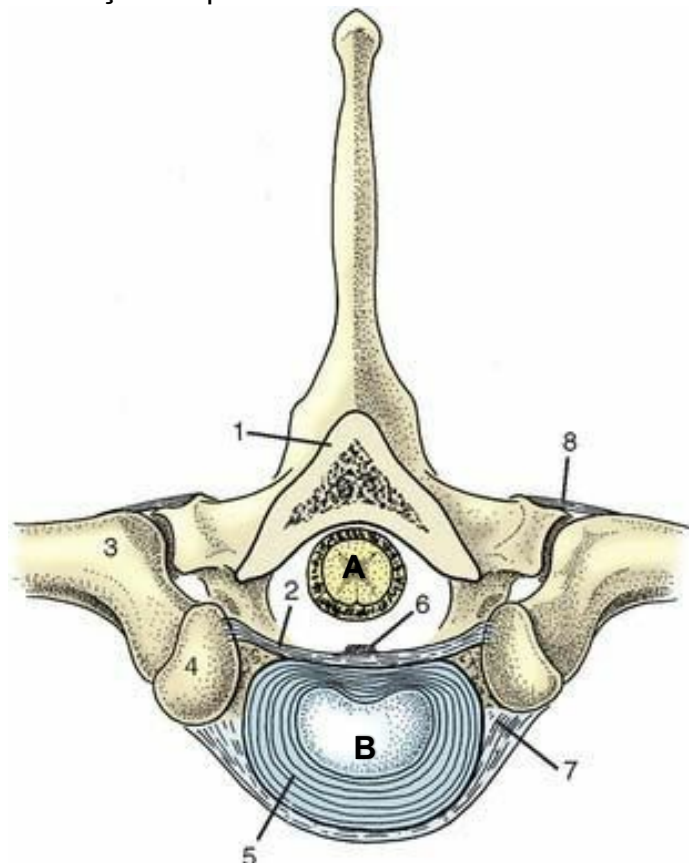
Fonte: König; Liebich (2016, p. 100).

Os discos intervertebrais são compostos por duas estruturas diferentes, o núcleo pulposo (NP) e o anel fibroso (AF), esquematizados na Figura 3. O NP é localizado no centro do disco, composto por uma substância gelatinosa contida sob pressão; e o AF se encontra ao redor do núcleo, na região periférica, composto por camadas de tecido fibroso (DYCE; WENSING; SACK, 2010; SMITH, 1999).

Já os ligamentos presentes na extensão da coluna vertebral, conferem

estabilidade a ela. Alguns estão localizados dorsal e outros ventralmente às vértebras, como observado na Figura 4. Três desses são: o ligamento supraespinhoso, posicionado dorsalmente ao processo espinhoso; o ligamento longitudinal dorsal, que percorre o dorso dos corpos das vértebras, por dentro do canal vertebral; e o ligamento longitudinal ventral, que se estende pela parte ventral do corpo das vértebras (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

Figura 3 - Representação esquemática de uma vértebra.

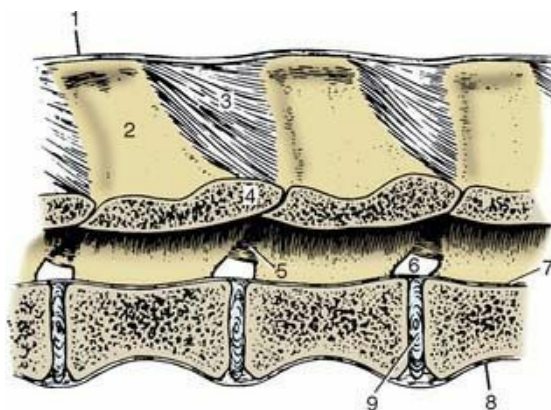


A, canal vertebral com a presença da medula espinhal e meninges medulares recoberta por gordura epidural; **B**, núcleo pulposo; **2**, ligamento intercapital; **4**, cabeça da costela; **5**, anel fibroso; **6**, ligamento longitudinal dorsal; **7**, articulação costovertebral.

Fonte: adaptado Dyce; Wensing; Sack (2010, p. 111).

Por serem articuladas com as costelas, as vértebras torácicas (VT) possuem o ligamento intercapital e facetas costais em suas extremidades para o encaixe das costelas. Por sua vez, as costelas apresentam uma crista em sua cabeça que, quando posicionada entre as facetas costais das vértebras, dá origem ao ligamento intercapital, observado na Figura 3 (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

Figura 4 - Representação dos ligamentos da coluna vertebral.



1, ligamento supraespinhoso; 6, forame intervertebral; 7, ligamento longitudinal dorsal; 8, ligamento longitudinal ventral; 9, disco intervertebral.

Fonte: Dyce; Wensing; Sack (2010, p. 41).

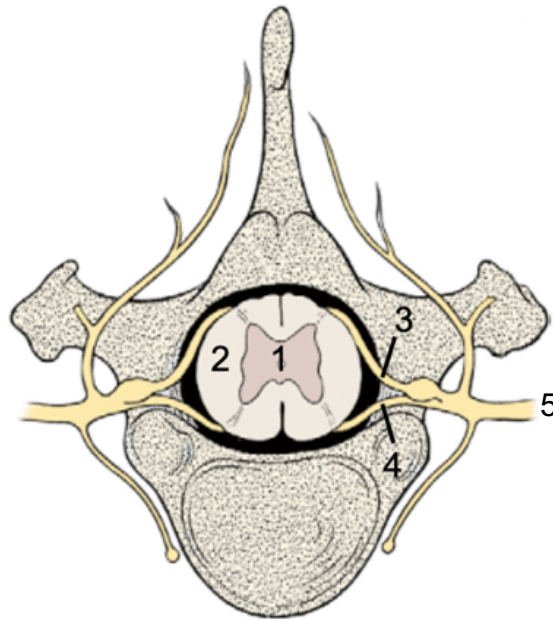
O ligamento intercapital conecta a cabeça de uma costela à cabeça da costela do lado oposto da mesma vértebra, conferindo estabilidade ao disco intervertebral, diminuindo as chances de ocorrência da Doença do disco intervertebral. Esse ligamento se encontra ausente nos 1º, 12º e 13º pares de costelas, o que aumenta as chances de protrusão ou extrusão do disco intervertebral (TOOMBS; WATERS, 2003).

2.2 Medula Espinhal

Localizada no interior do canal vertebral, a medula espinhal (ME) é composta pela substância cinzenta e substância branca, recoberta pelas três meninges, dura-máter, pia-máter e aracnóide, envolta pelo líquido céfalo-raquidiano (LCR) e por gordura epidural, juntamente com vasos sanguíneos, fazendo parte do SNC (EVANS; de LAHUNTA, 2010; SMITH, 1999).

As substâncias que compõem a ME, são diferenciadas pelo tipo de célula que possuem. A substância cinzenta, localizada no centro da ME, é formada por corpos celulares de neurônios, e a substância branca, localizada ao redor da substância cinzenta, é composta por axônios mielinizados, o que caracteriza a coloração esbranquiçada, representado na Figura 5 (KONIG; LIEBICH, 2016).

Figura 5 – Diagrama de um nervo espinhal.



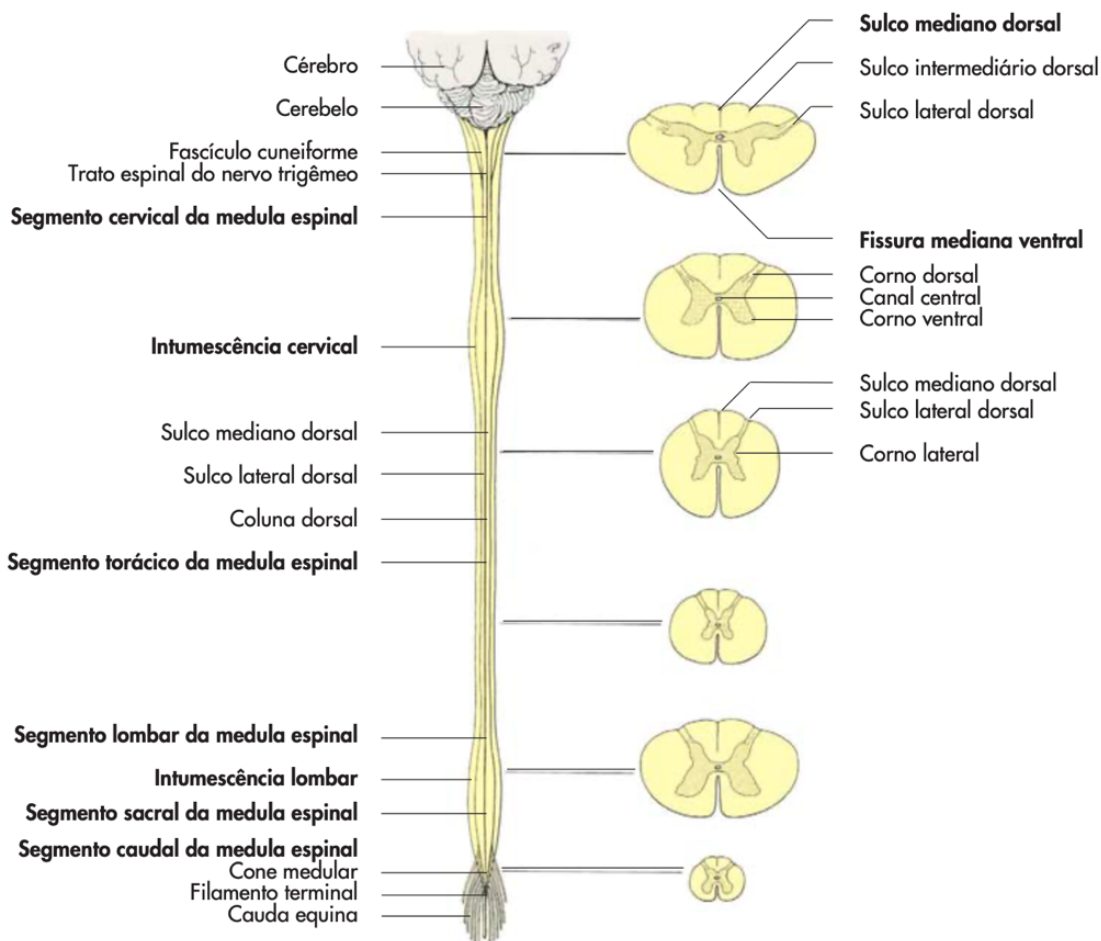
1, substância cinzenta; **2**, substância branca; **3**, raiz dorsal (via aferente); **4**, raiz ventral (via eferente); **5**, nervo espinhal.

Fonte: adaptado Evans; de Lahunta (2010, p. 286).

A CV possui forames intervertebrais (FIV) em toda sua extensão. As raízes nervosas dorsais e ventrais emergem da ME, passando através dos FIV, originando os nervos espinhais, como observado na Figura 5 (EVANS; de LAHUNTA, 2010).

Os nervos espinhais responsáveis pela inervação dos membros torácicos se originam da região cervicotorácica (C6-T1) da ME, na chamada intumescência cervical. Já os membros pélvicos, são inervados por nervos espinhais originados da intumescência lombar, localizados no segmento lombar (L4-L7) da ME, como representado na Figura 6 (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

Figura 6 – Representação esquemática da medula espinhal.



Fonte: Konig; Liebich (2016, p. 496).

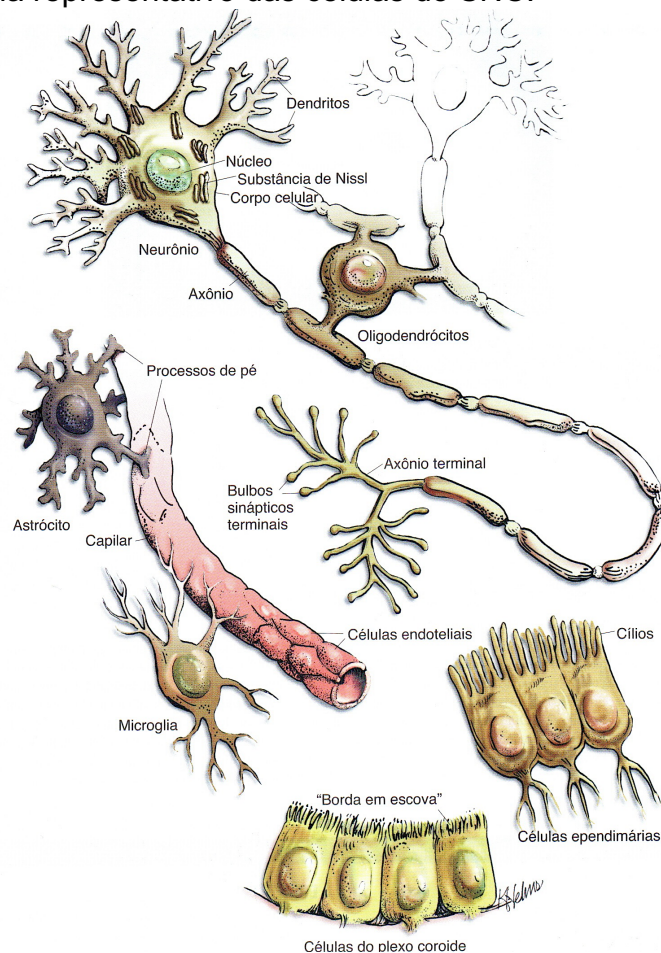
Juntamente com a ME, os nervos espinhais, exercem a função de levar ou trazer impulsos elétricos e estímulos. Representados na Figura 5, as vias aferentes ou raízes dorsais, dos nervos espinhais, são chamadas de neurônios sensitivos, pois levam a informação dos membros e dos tecidos periféricos, em direção ao encéfalo para ser processada. Já as vias eferentes ou raízes ventrais, são chamadas de neurônios motores, pois passam a informação já processada no encéfalo, para os membros, possibilitando a realização dos movimentos (DYCE; WENSING; SACK, 2010).

2.3 Células do SNC

O SNC é composto com diversas células com funções específicas e de grande importância à homeostase do sistema. Como já discutido, o SNC é

dividido entre substância branca e substância cinzenta e em cada divisão existem células com funções diferentes. Os principais tipos celulares encontrados no SNC são: neurônios, astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais vasculares, como pode-se observar na Figura 7 (ZACHARY; McGAVIN, 2013).

Figura 7 – Esquema representativo das células do SNC.



Fonte: Zachary; McGavin (2013, p.775).

2.3.1 Neurônios

Os neurônios, presentes no SNC, apresentam funções de transmitir impulsos elétricos e químicos, realizar seu processamento e regular os impulsos inibitórios e estimulantes. Essas células são compostas por dendritos, um corpo celular, ou núcleo, e um axônio, sendo que o comprimento deste varia em relação a função do neurônio. O axônio acaba nos processos sinápticos ou nas junções neuromusculares, podendo se estender por metros (ZACHARY;

McGAVIN, 2013).

Os neurônios são as células mais vulneráveis de todo o organismo e exigem grande quantidade de energia e constante aporte sanguíneo fornecendo glicose a elas para que possam realizar suas funções e manter a homeostase tecidual. Diversas situações podem causar dano aos neurônios, como, por exemplo, casos de injúria, como na lesão medular, o local da lesão sofre diferentes tipos de dano, o que acarreta estresse oxidativo de radicais livres, como em casos de hematomas, lesionando neurônios (CARVALHO et al., 2013; KIM et al., 2015; TIZARD, 2014; ZACHARY; McGAVIN, 2013).

Outro exemplo de dano é a estimulação excessiva de neurotransmissores excitatórios, as chamadas excitotoxinas, que em condições de injúria e, principalmente isquemia, são excessivamente liberados pelos neurônios lesionados, o que acaba levando à degeneração neuronal e morte, pois os neurônios possuem baixa taxa de tolerância a essas substâncias. Quando em situações normais, os astrócitos seriam suficientes para absorver o excesso dos neurotransmissores (CARVALHO et al., 2013; KIM et al., 2015; TIZARD, 2014; ZACHARY; McGAVIN, 2013).

2.3.2 Astrócitos

É o tipo celular mais numeroso do SNC e possui inúmeras funções como possuir conexões com outros diversos astrócitos, formando uma rede de monitoramento para a regulação do o balanço hidro-eletrolítico dos neurônios e do espaço extracelular, por todo o SNC; participam na formação da barreira hematoencefálica; monitoram e removem a excreção excessiva dos neurotransmissores, como as excitotoxinas já citadas (ZACHARY; McGAVIN, 2013).

Os astrócitos tem a função de realizar a cicatrização após uma lesão ao tecido nervoso, como na lesão medular, e também produzir uma cicatriz glial para a proteção do tecido a cavidades e abscessos, além disso é responsável por gerar um processo inflamatório e necrose celular para a renovação do tecido (ZACHARY; McGAVIN, 2013).

2.3.3 Oligodendrócitos

Sua principal função é realizar a mielinização dos axônios, conferindo a eles velocidade na resposta à estímulos, e também regular o microambiente adjacente aos neurônios. Por realizarem a mielinização axonal, são responsáveis também por sua manutenção. Em casos de lesão ou doenças que ocasionam a diminuição da mielinização de axônios, a disfunção neurológica gerada é importante, acarretando, muitas vezes, na perda de função (OLBY, 2010; ZACHARY; McGAVIN, 2013).

2.3.4 Micróglia

A micróglia são células presentes em todo o SNC exercendo função fagocítica; de imunovigilância, ou seja, resposta primária a antígenos invasores; e de imunorregulação. Além disso, após ativadas secretam citocinas inflamatórias acarretando lesão neural (OLBY, 2010; ZACHARY; McGAVIN, 2013).

3 CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS

Pesquisas sobre CT estão abrindo caminhos e possibilidades revolucionárias para a medicina, tanto humana quanto veterinária, fornecendo novas concepções sobre a diferenciação e regeneração tecidual, com o pretexto de alterar o curso de diversas doenças. A aplicação de CT na lesão medular pode resultar na melhora dos sinais clínicos do animal, por possibilitar a regeneração do tecido nervoso medular lesionado (BYDLOWSKI et al., 2009; LEMISCHKA, 2005; MIAO et al., 2006; ROSSI; KEIRSTEAD, 2009).

3.1 Definição de Células-tronco Mesenquimais

As CT são células indiferenciadas, capazes de auto-renovação e multiplicação, para que sua presença ativa nos tecidos se mantenha em uma taxa alta e constante, e estão presentes em todos os tecidos do corpo desde a fase embrionária (ALVARADO, 2008; BARROS, 2017).

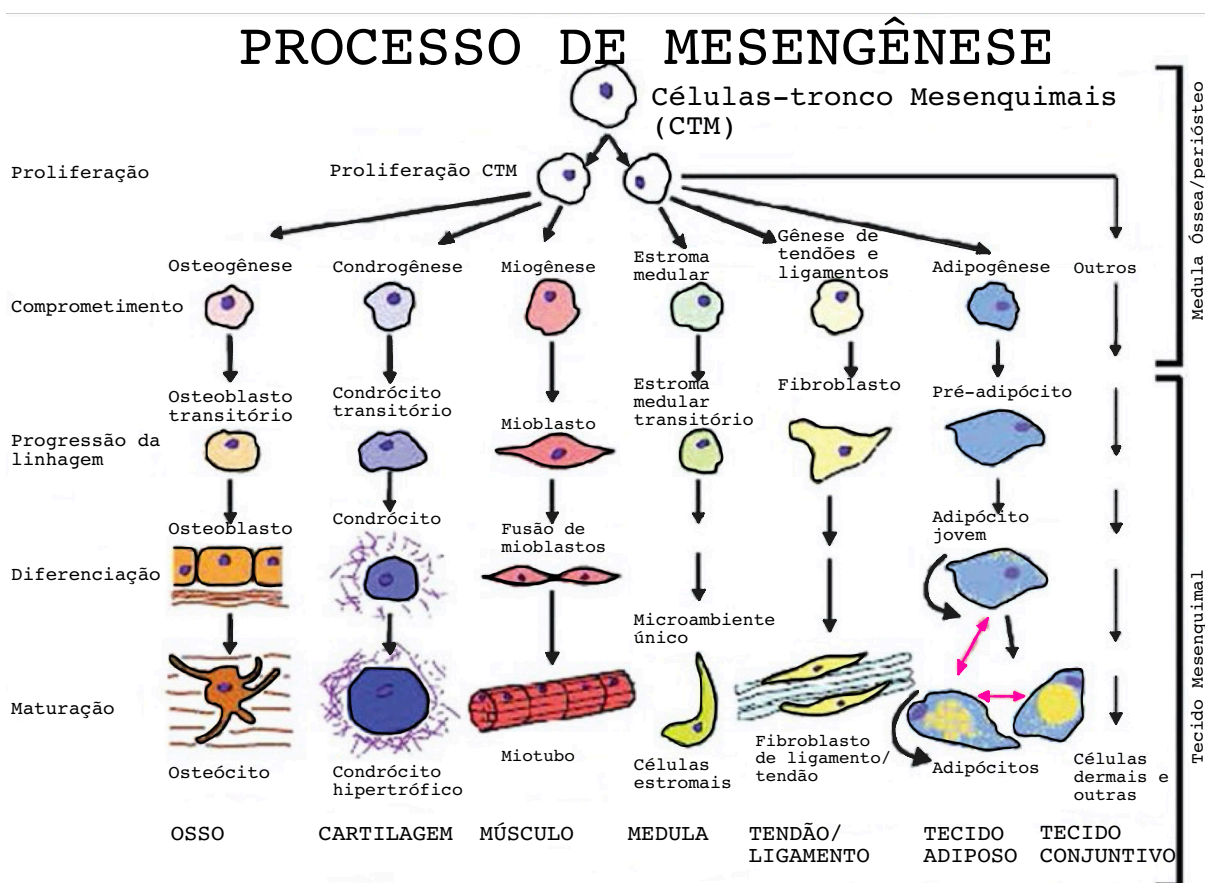
Por serem indiferenciadas, podem originar células com função específica, possibilitando diversas utilizações terapêuticas, como o uso em doenças neurológicas e hepáticas, acidentes ou lesões, envelhecimento fisiológico celular, manutenção da homeostase celular e reparação tecidual durante o decorrer da vida do animal (ALVARADO, 2008; BYDLOWSKI et al., 2009; MEIRELLES et al., 2009; PITTENGER et al., 1999; SANTOS, 2018).

As CT são classificadas de acordo com o seu potencial de diferenciação e o momento de cultivo, sendo as células-tronco embrionárias (CTE) coletadas antes do nascimento do animal, e, após o nascimento, as chamadas células-tronco adultas (CTA). Existem duas classificações de CTE: as CTE totipotentes, capazes de gerar qualquer tipo de tecido, tanto folhetos embrionários quanto células placentárias e umbilicais; e as CTE pluripotentes, que se diferenciam apenas nos 3 folhetos embrionários: endoderma, mesoderma e ectoderma. Células-tronco hematopoiéticas são CTA, encontradas na medula óssea de tecidos adultos. Delas se originarão apenas células da linhagem hematológica (BARROS, 2017; HERZOG; CHAI; KRAUSE; 2003; MEIRELLES; CHAGASTELLES; NARDI, 2006).

As chamadas CTM, são consideradas CTA não-hematopoiéticas multipotentes, presentes em todos os tecidos adultos, capazes de se diferenciar

em tipos celulares mais específicos, tanto *in vitro*, quanto *in vivo* como representado na Figura 8, que exemplifica o processo de mesengênese, em que a CTM multipotente encontrada na medula óssea e em outros tecidos é capaz de se replicar e gerar uma linhagem de células diferenciadas que produzem tecido ósseo, cartilaginoso, muscular, medular, tendão e ligamentoso e outros tecidos conjuntivos ou mesenquimais (BYDLOWSKI et al., 2009; CAPLAN, 2017; del CARLO, 2010; MONTEIRO; NETO; MARX et al., 2014).

Figura 8 – Representação esquemática do processo de mesengênese.



Fonte: Adaptado Caplan (2017, p. 02).

O termo mesenquimal, derivado do grego “meio” (meso), se refere a habilidade dessas células de migrar para tecidos ecto, meso e endodermiais. Essa característica migratória e de preenchimento tissular é o principal elemento para reparação tecidual em organismos adultos que envolvam células mesenquimais da derme, dos ossos e dos músculos (CAPLAN, 1991).

Dr. Arnold Caplan (1991), sugeriu que essas CTM seriam responsáveis pela rotatividade e manutenção do próprio tecido mesenquimal em adultos, portanto elas teriam de se auto-regenerar para manter o organismo vivo. Essa teoria foi proposta devido a já conhecida capacidade de regeneração de células hematológicas, tanto da série eritróide quanto da mielóide, pelas CT derivadas da medula óssea. Portanto, o organismo deve apresentar um depósito de CT.

As CTM podem ser encontradas em diversos tecidos adultos, como: no estroma da medula óssea, tecido adiposo, periósteo, musculatura esquelética, músculo cardíaco, polpa dentária, tecido nervoso, rim, pulmão, fígado e entre outros. Além de tecidos adultos pós-natais de suporte, que são a parede do cordão umbilical, líquido e membrana amniótica e placenta. É sabido que a idade do doador de CTM é um fator importante para o sucesso do transplante, já que animais jovens possuem uma porcentagem maior de CTM em seus tecidos, quando comparado aos adultos (BYDLOWSKI et al., 2009; MEIRELLES; CHAGASTELLES; NARDI, 2006; MIAO et al., 2006; OLBY, 2010; PITTENGER et al., 1999; SARMENTO, 2012; YARAK; OKAMOTO, 2010; ZUK et al., 2002).

A Sociedade Internacional de Terapia Celular (ISCT - *International Society for Cellular Therapy*) definiu que, para serem chamadas de células mesenquimais, as CTM deveriam estar dentro dos critérios estabelecidos, que são: adesão ao plástico *in vitro*; diferenciação em osteoblastos, adipócitos e condroblastos quando cultivados *in vitro*; e possuir marcadores de superfície positivos para CD73, CD90, CD29 e CD105; e negativos para CD11b ou CD14, CD19 ou CD79- α , CD34, CD45 e HLA-DR. O marcador Stro-1, é o melhor marcador de CTM conhecido, porém não é exclusivo dessas células e pode ser perdido durante o cultivo, portanto não é classificado como um marcador obrigatório (ALVES et al., 2017; BYDLOWSKI et al., 2009; MEIRELLES et al., 2009; MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008).

A diferenciação e proliferação das CTM no tecido, dependem de situações como: sua capacidade de diferenciação em células específicas desse tecido; se o estímulo recebido pelas CTM é efetivo; e se foram cultivadas em condições específicas favoráveis. Somente se forem cultivadas em ambiente favorável, elas poderão ser induzidas a se diferenciar em diversos tipos teciduais, como tecido ósseo, adiposo, cartilaginoso, muscular, neural, endotelial, cardíaco,

renal, hepático, células produtoras de insulina, células tendíneas e ligamento, entre outros tecidos. A capacidade de células-tronco da linhagem mesenquimal se diferenciar em células de linhagens germinativas diferentes, como ectodermal e endodermal, é chamado de plasticidade (AGGARWAL; PITTENGER, 2005; ALVARADO, 2008; BARROS, 2017; BYDLOWSKI et al., 2009; del CARLO, 2010; MIAO et al., 2006; MONTEIRO; NETO; MEIRELLES et al., 2009).

De acordo com Monteiro, Neto e del Carlo (2009), por conta de sua plasticidade, as CTM podem originar células por meio: da transdiferenciação celular, processo pelo qual a célula germinativa mesodermal altera sua composição para gerar uma célula-alvo específica (forma direta) ou se diferencia para uma CT de outra linhagem primordial para depois poder se rediferenciar na célula-alvo (forma indireta), como por exemplo uma CTM de origem mesodermal se diferenciar em um neurônio, de origem ectodermal; ou se origina também pelo mecanismo de fusão da CTM com a célula-alvo presente no local.

O fator que permite a auto-renovação e diferenciação das CTM é o microambiente em que elas se encontram, denominado nicho quando em um tecido. As células permanecem em estado adormecido quando nos nichos, e no decorrer da vida do animal, em casos de lesões e regeneração celular devido ao envelhecimento fisiológico, são recrutadas para realizar a reposição celular. Portanto, as CTM são encarregadas pela realização da manutenção da homeostase e reparação do tecido durante o envelhecimento. Essas células podem ser aplicadas em um microambiente específico, após cultivadas *in vitro*, ou podem estar presentes no tecido de forma fisiológica. Quando as CTM entram em contato com as células presentes nos nichos, adquirem sua morfologia e função com o intuito de restaurar o tecido lesionado. Portanto, essas células são capazes de se diferenciarem em um tipo celular específico, se os fatores bioativos, também específicos, estiverem presentes no tecido (CAPLAN, 1991; CAPLAN; DENNIS, 2006; LUCENA, 2014; SANTOS, 2018; YARAK; OKAMOTO, 2010).

Mediadores químicos, como citocinas e fatores de crescimento (GF), secretados pela própria CTM, atuam nas ações autócrina e parácrina, além de exercerem funções anti-inflamatória, angiogênica, antiapoptótica, imunomodulatória, imunossupressora e antifibrótica. Os mediadores são

expressos e liberados ocasionalmente, ou caso haja necessidade, possibilitando distintas diferenciações celulares de acordo com o microambiente em que a célula se encontra (CAPLAN; DENNIS, 2006; de SOUZA et al., 2010).

Na medicina veterinária, o uso de CTM derivadas do tecido adiposo têm se tornado uma das fontes mais utilizadas, principalmente para animais com lesões tendíneas, ósseas, ligamentares e articulares, por conta da facilidade de sua coleta, por sua abundância, por seu grande potencial regenerativo e por ser um procedimento menos invasivo. As CTM oriundas da medula óssea e cordão umbilical também são utilizadas na veterinária (KIM et al., 2015; MARX et al., 2014; SANTOS, 2018; WEISS; DAHLKE, 2019).

3.2 Ação autócrina e parácrina das CTM

A diferenciação celular consiste nos dois tipos de fatores (intrínsecos e extrínsecos) que serão conjugados para controlar a expressão de padrões moleculares e celulares, resultando em tecidos específicos com funções específicas, baseado em seu agrupamento molecular (CAPLAN, 1991).

O progresso da diferenciação celular da CTM, para que alcance o fenótipo da célula-alvo, é marcado por diferentes estágios. Os estágios vão depender do tipo de regulação desejada: ação parácrina, ou sinalização extrínseca; e autócrina, ou sinalização intrínseca, das CTM (CAPLAN, 1991).

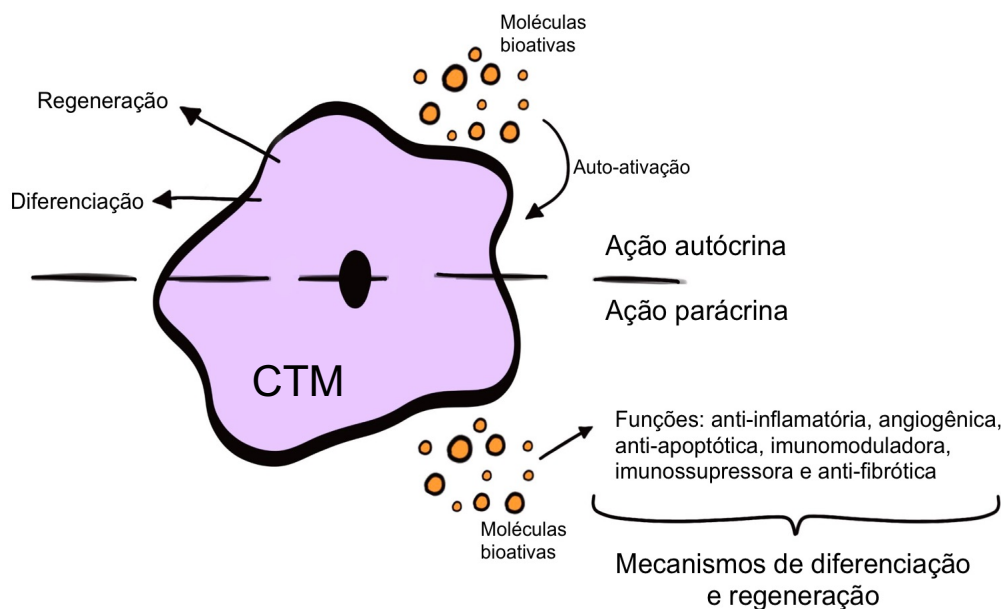
A ação autócrina das CTM consiste em sinais emitidos pela própria célula e a recepção de sua própria sinalização. Ou seja, há liberação de moléculas bioativas pela CTM que serão recepcionadas por ela mesma, e definirá sua posição de desenvolvimento, resultando no processo de regeneração celular ou diferenciação (CAPLAN, 1991).

A auto-renovação dessas células, ocorre devido a estímulos de liberação de moléculas bioativas, como interleucinas, que acarretam a substituição das células velhas por células jovens promovendo a regeneração do tecido. Esse comportamento ocorre pela habilidade de plasticidade das CTM já comentada. A diferenciação, a transdiferenciação e a fusão celulares são esclarecimentos propostos para fundamentar o processo da plasticidade (BARROS, 2017;

CAPLAN, 1991).

Já a ação parácrina das CTM, consiste na liberação de substâncias bioativas, como quimiocinas, receptores de citocinas e GF. Essas moléculas, quando secretadas, realizam diferentes ações no organismo, como ação anti-inflamatória, angiogênica, antiapoptótica, imunossupressora, antifibrótica e reparadora endógena. Com isso, agem como um mecanismo de diferenciação, e por consequência, regeneração celular por estimular outras CT e em diferentes tecidos, como representado na Figura 9 (BARROS, 2017; CAPLAN; DENNIS, 2006; del CARLO, 2010; MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; MONTEIRO; NETO).

Figura 9 – Representação esquemática das ações autócrina e parácrina das células-tronco mesenquimais.



Fonte: Própria.

Portanto, os efeitos terapêuticos das CTM não podem ser explicados apenas pelo processo de diferenciação celular em tecido-específico ou microambiente. O transplante efetivo dessas células depende também da secreção dos fatores bioativos, como moléculas quimioatraentes, que prestarão assistência ao tecido lesionado, pelo recrutamento de novas células (MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008).

3.3 Ação imunomodulatória das CTM

As CTM possuem duas funções gerais distintas: uma função é prover a diferenciação direta da CTM em um fenótipo celular específico, como osteoblastos, condroblastos, miócitos, e entre outros, realizando a substituição da célula injuriada; a outra função é influenciar a regeneração de células ou tecidos por meio da liberação de seus fatores bioativos, sem que haja a substituição das mesmas. As CTM, pela liberação desses fatores, atuam sobre as células do sistema imune, conferindo sua ação imunomodulatória (CAPLAN; DENNIS, 2006; del CARLO, 2010; MONTEIRO; NETO).

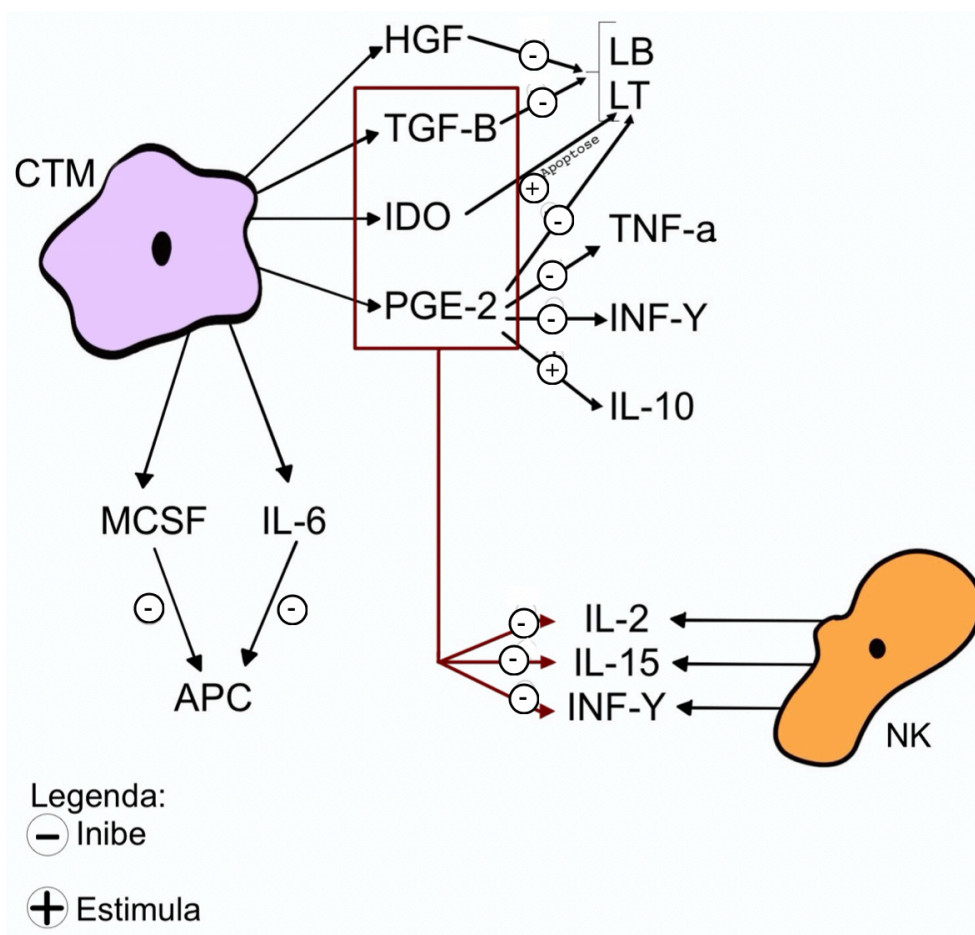
A ação imunomoduladora consiste no contato das CTM de modo autócrino com as células teciduais ou de modo parácrino com o interferon-gama (INF- γ) secretado por células imunes. Quando existe esse contato, as CTM liberam os fatores solúveis, como as prostaglandina-2 (PGE-2), as interleucinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-13), o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), o fator de crescimento hepatóide (HGF), a enzima indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) e entre outros, que atuarão nas células imunes, como linfócitos e células apresentadoras de antígenos (APC), desempenhando uma atividade imunossupressora e anti-inflamatória (CAPLAN; DENNIS, 2006; del CARLO, 2010; CHO et al., 2014; MONTEIRO; NETO; WEISS; DAHLKE, 2019).

Esses fatores estimulam e inibem diversos mecanismos imunomodulatórios do organismo. Como representado na Figura 10, os fatores TGF- β e HGF inibem a proliferação de linfócitos T e B; a liberação de PGE-2 também inibe a produção de linfócitos T e a produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e de INF- γ ; a PGE-2 estimula a produção da citocina anti-inflamatória IL-10; já a IDO induz a apoptose dos linfócitos T; os fatores IDO, PGE-2 e TGF- β fazem com que as células natural killer (NK) percam sua ação citotóxica, por impedir a liberação de IL-2, IL-15 e INF- γ . As CTM produzem IL-6 e o fator de crescimento estimulador de macrófagos (M-CSF), que interferem na diferenciação, maturação e ativação das APC (MEIRELLES et al., 2009; MONTEIRO; NETO; del CARLO, 2010).

Os fatores bioativos atuam no sistema imune do tecido local, inibindo fibrose e apoptose, estimulando a angiogênese, mitose e na diferenciação

celular com função de reparar a lesão. O conjunto dos efeitos produzidos por esses fatores, é chamado de efeito trófico, distinto da diferenciação direta das CTM no reparo tecidual. Como representado na Figura 11, no momento em que o tecido é lesionado, as moléculas bioativas são secretadas pelas células locais induzindo o efeito trófico, e quando há o uso de terapia com CTM, aplicadas diretamente no tecido ou por via sistêmica, o reparo e regeneração tecidual são estimulados (CAPLAN; DENNIS, 2006; MEIRELLES et al., 2009).

Figura 10 – Representação esquemática das citocinas liberadas pelas células-tronco mesenquimais e suas ações.

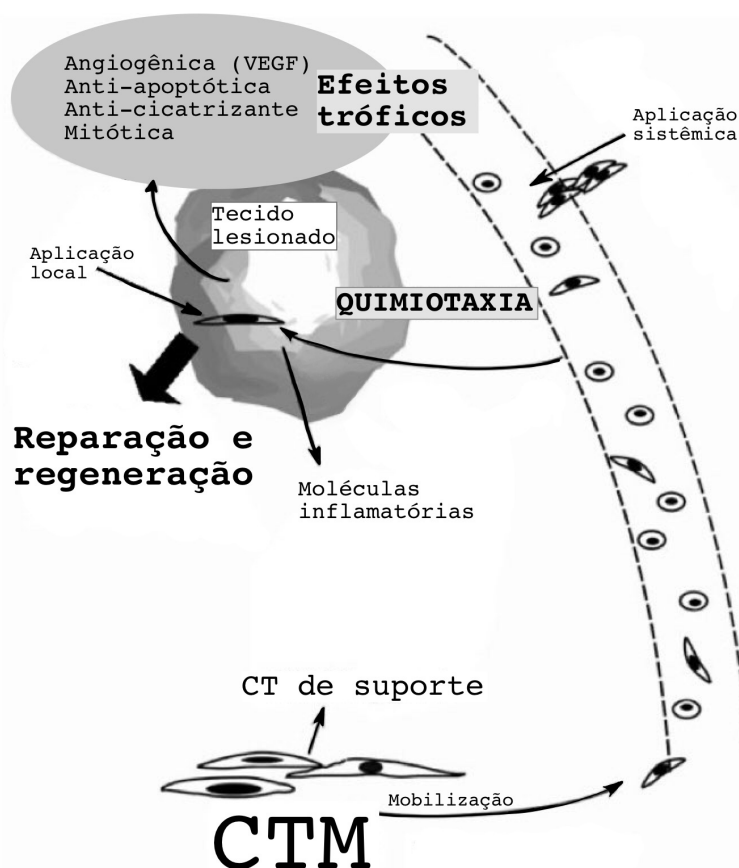


Fonte: própria.

Outro fator imunomodulador das CTM é a presença de uma ínfima quantidade de complexo de histocompatibilidade de classe I (MHC-I) e ausência de complexo de histocompatibilidade de classe II (MHC-II) em sua superfície. A molécula MHC é uma estrutura presente nas APC com a função de apresentar os fragmentos antigênicos às células sensíveis a antígenos. Quando uma célula

do organismo possui o MHC tanto de classe I como de classe II, ela vira alvo de células fagocíticas, ou seja, será destruída. Como as CTM apresentam pequenas quantidades dessas moléculas, as células imunes do sistema não as reconhecerão como estranhas ao organismo e não as rejeitarão, aumentando assim a permanência das CTM nos tecidos e sua efetividade (del CARLO, 2010; MONTEIRO; NETO; TIZARD, 2014).

Figura 11 – Esquema de representação do reparo tecidual pelos mecanismos tróficos.



Fonte: Adaptado Caplan; Dennis (2006, p. 1081).

Portanto, as CTM possuem a propriedade imunomodulatória por realizar alterações funcionais nas células do sistema imune, como macrófagos, células dendríticas, linfócitos T e B e células NK. Essas alterações ocorrem devido a secreção de uma variedade de citocinas e GF que suprimem diretamente o reconhecimento do sistema imune, a ação de linfócitos T e B e providenciam um microambiente próprio para sua sobrevivência, sendo sensíveis e responsivos ao local injuriado, auxiliando em sua reparação (CAPLAN; DENNIS, 2006; MEIRELLES et al., 2009; RAFFAGHELLO et al., 2008; WEISS; DAHLKE, 2019).

3.4 Ação anti-inflamatória das CTM

Como visto, as CTM apresentam diversas finalidades terapêuticas tanto na medicina humana como na veterinária, e seu uso em situações inflamatórias é um dos pontos estudados mais promissores (WEISS; DAHLKE, 2019).

As CTM possuem mecanismos de ação anti-inflamatória que atuam nas células de defesa do sistema imune. Isso ocorre pela inibição dos fatores pró-inflamatórios e estímulo dos fatores anti-inflamatórios, por meio da regulação das citocinas secretadas pelas células de defesa e pela liberação própria de interleucinas e outros fatores atuantes no sistema (WEISS; DAHLKE, 2019).

O sistema imune utiliza de células de diferentes linhas de defesa para o equilíbrio de seu funcionamento. Os neutrófilos são células fagocíticas presentes em todos os tecidos do corpo e são caracterizadas como células de primeira linha de defesa, lisando os microrganismos invasores, porém elas apenas não conseguem suprir a necessidade de proteção do organismo. Portanto, o corpo utiliza um meio de sistema de segurança que aciona outras células para ajudar na fagocitose dessas estruturas, são os chamados macrófagos (TIZARD, 2014).

Os neutrófilos apresentam um tempo de vida curto em relação aos macrófagos, porém sua ação apoptótica é mais alta e rápida. Quando os neutrófilos detectam antígenos ou estruturas estranhas, liberam citocinas para a recrutação dos macrófagos, e quando fagocitam os microrganismos, sofrem o processo de apoptose, destruição da própria célula que está infectada (TIZARD, 2014). Raffaghello et al. (2008), evidenciaram que as CTM inibem a apoptose dos neutrófilos sem que afete a fagocitose de microrganismos, expressão de MHC ou a migração para tecido injuriado em resposta ao estímulo.

Os macrófagos contribuem para o início e resolução da inflamação. Quando presentes no sítio inflamatório, apresentam funções de detecção e fagocitose de microrganismos estranhos, secretam citocinas que desencadeiam as respostas imunes inata e adaptativa, possuem ações pró e anti-inflamatórias, realizam o reparo do tecido injuriado e auxiliam na cicatrização (CHO, et al., 2013; TIZARD, 2014).

Em relação a sua ação inflamatória, os macrófagos expressam diferentes

níveis de ativação, que dependem da molécula ativadora. Eles podem ser ativados como M1 (macrófagos de classe I) ou como M2 (macrófagos de classe II). No primeiro momento da inflamação, os monócitos chegam ao sítio inflamatório, produzem algumas citocinas, principalmente o TNF- α e a IL-12, de ação pró-inflamatória, que ativam as NK. As células NK secretam IFN- γ que recrutam mais macrófagos, estimulando a produção de óxido nítrico (NO). O INF- γ , TNF- α e o NO realizam a ativação dos M1, que possuem função de fagocitose de microrganismos invasores e estimulam a ação pró-inflamatória, pela constante liberação de citocinas de mesma função (CHO et al., 2014; TIZARD, 2014).

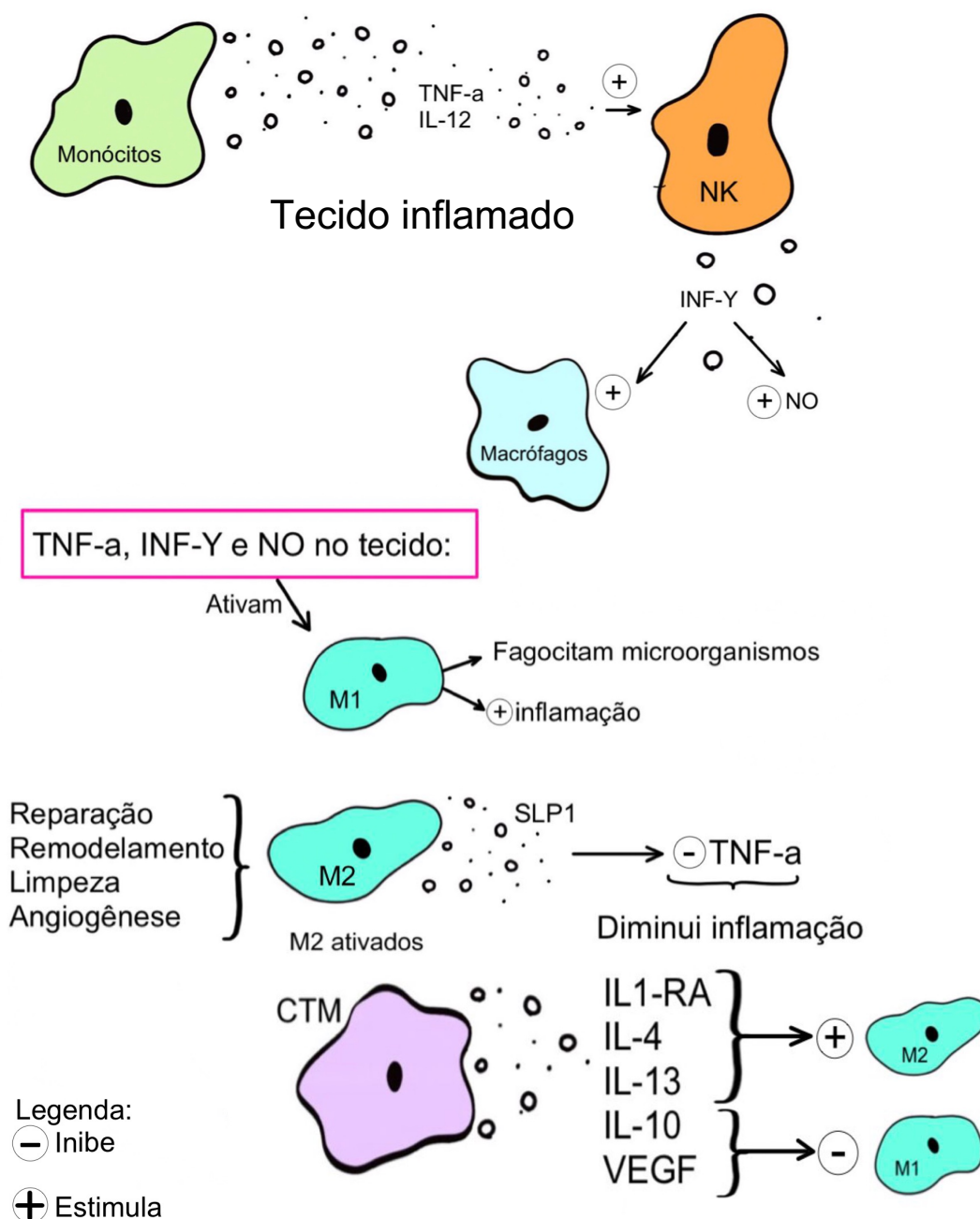
Após a ação dos M1, o tecido necessita de reparação, remodelamento e limpeza tecidual e a formação de novos vasos sanguíneos para nutrir o sítio, possibilitando a proliferação e sobrevivência celular do local. Portanto, nesse momento os M2 são ativados, pois realizam essas funções. Os M2 secretam SLP1 (do inglês *secretory leukocyte protease inhibitor*) que, após ativar diversos mecanismos, inibe a liberação do TNF- α . O TNF- α é uma citocina estimuladora da inflamação, portanto pela sua inibição, o processo inflamatório é diminuído, concedendo ao M2 a atividade de supressão da resposta imunológica (CHO, et al., 2013; TIZARD, 2014).

A respeito desse assunto, as CTM promovem uma polarização dos macrófagos para o fenótipo 2, estimulando a ação anti-inflamatória, e inibição direta da ativação dos M1, como representado na Figura 12. Isso ocorre pela secreção: do IL1-RA (receptor antagonista da IL-1), IL-4 e IL-13 pelas CTM, que estimula a ativação dos M2; da citocina anti-inflamatória IL-10, VEGF (fator de crescimento endotelial vascular); e reduzem a produção de TNF- α , IL-12, linfócito TCD86 e a molécula MHC-II, de ação pró-inflamatória (CHO et al., 2014; WEISS; DAHLKE, 2019).

Após uma lesão tecidual, originada por diversos fatores, plaquetas são ativadas no local, liberando GF. Em seguida, um processo inflamatório é gerado, envolvendo as células do sistema imunológico como os neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Com a fagocitose de células lesionadas feita pelos macrófagos, moléculas de estímulo e mediadores inflamatórios são secretados, ativando as células do processo de reparação tecidual. Simultaneamente, células

endoteliais são ativadas pela lesão e hipóxia tecidual, quimioatraindo mais células imunes e, dessa forma, estimulando a ativação das CTM e sua proliferação, elevando a quantidade dos fatores bioativos secretados (GF e moléculas de adesão), realizando portanto, sua ação parácrina (BARROS, 2017; MONTEIRO; NETO; del CARLO, 2010).

Figura 12 – Representação esquemática da ativação de macrófagos e da polarização dos macrófagos realizada pelas células-tronco mesenquimais.



Nos casos em que o tecido hígido não for restaurado, seja pela não eliminação do microrganismo ou pelo reparo tecidual ineficaz, a resposta inflamatória permanece e uma doença crônica pode ocorrer. Caso isso aconteça, haverá um ciclo constante de ativação de M2 que produzirão IL-1, estimulando a deposição de colágeno contínua, gerando uma inflamação crônica (TIZARD, 2014).

Portanto, as CTM possuem funções anti-inflamatórias extremamente importantes e de grande interesse na terapia celular, tanto para a diminuição da inflamação quanto para a regeneração tissular (CHO et al., 2014).

3.5 Ação imunossupressora das CTM

As CTM possuem a ação imunossupressora pelo fato de inibirem a proliferação dos linfócitos T (LT) por meio da secreção de fatores bioativos (AGGARWAL; PITTENGER, 2005).

Os linfócitos são as principais células da imunidade adaptativa e são diferenciados em três tipos principais: os LT, têm responsabilidade pela imunidade celular; as células NK, responsáveis pela destruição de outras células; e os linfócitos B (LB), responsáveis pela produção de anticorpos (TIZARD, 2014).

Os LT possuem inúmeras populações distintas, resultado das diferentes proteínas presentes em sua superfície. A proteína CD4, caracteriza uma das principais populações de células T. O linfócito TCD4 (LTCD4) coordena a resposta imune por meio de citocinas (INF- γ , IL-12 e IL-2); atuam também como receptores de APC com o MHC-II, ou seja, são capazes de reconhecer antígenos externos. A outra população são os linfócitos TCD8 (LTCD8), de ação citotóxica, realizam a apoptose de células que possuem o MHC-I (TIZARD, 2014).

Os LTCD4, também podem ser chamados de linfócitos T helper (LTh), e possuem uma subdivisão de acordo com as citocinas que produzem, gerando conseqüentemente, respostas efetoras distintas (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; TIZARD, 2014).

A subdivisão LTh1 é induzida pela IL-12. Essa população produz o INF- γ , TNF- α e a IL-2, que estimula a proliferação de todos os tipos de LT e aumenta a aptidão citotóxica dos LTCD8. A população LTh2, produz IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, que favorecem a resposta imune humoral, ou seja, a produção de LB e, conseqüentemente, anticorpos, e também a resposta anti-inflamatória. E os LTh17, diferenciação realizada pela IL-23, secretam diversas citocinas, como a IL-17, que possui potente ação inflamatória (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; TIZARD; 2014).

Já os LTCD8, chamados de LT citotóxicos, realizam a apoptose de qualquer APC infectada que apresente o MHC-I e de células cancerígenas (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; TIZARD, 2014).

As CTM apresentam uma grande capacidade de alterar a resposta inflamatória no organismo. Essas células secretam a IL-10, que possui a capacidade de inibir as citocinas TNF- α e INF- γ , de ação pró-inflamatórias. Secretam também fatores bioativos, como TGF- β e PGE2, que em conjunto com a IL-10, possuem a capacidade de inibir a proliferação de linfócitos. Com exceção ao linfócito Treg (linfócito T regulador) de ação anti-inflamatória, que acaba recebendo estímulos para sua multiplicação pela secreção de TGF- β vinda das CTM (AGGARWAL; PITTENGER, 2005; WEISS; DAHLKE, 2019).

Os resultados de Aggarwall e Pittenger (2005), sugeriram que as CTM possuem a habilidade de inibir o INF- γ e estimular a secreção de IL-4, gerando uma estimulação da ação anti-inflamatória dos LTh2.

Os LB são a base da resposta imune humoral por receberem a função de produzir anticorpos. Os anticorpos são opsoninas, que podem estar presentes na superfície de LB, atuando como receptores de antígenos, ou presentes na circulação, tecidos e mucosas, neutralizando toxinas, impedindo disseminação de patógenos e eliminando microrganismos. As opsoninas são moléculas que recobrem os patógenos e promovem sua destruição, chamada de opsonização. Os LB, quando infiltrados na lesão medular, podem originar anticorpos que causam danos ao próprio organismo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015; OLBY, 2010; TIZARD, 2014).

As CTM interagem diretamente com os LB reduzindo sua proliferação e

refreando sua maturação. Essas células também promovem o estímulo de linfócitos Breg (linfócito B regulador) que possuem propriedades imunossupressoras por secretarem IL-10 alterando o fenótipo LTCD4 em Treg. Por diminuírem a produção de LB, as CTM também ocasionam a inibição de anticorpos, como IgG, IgM e IgA (WEISS; DAHLKE, 2019).

O terceiro grupo de linfócitos são as células NK, com o objetivo de destruir patógenos, atuando na primeira linha de defesa da imunidade inata, sem a necessidade de ativação prévia. Realizam também a lise de células injuriadas e tumorais do próprio organismo (TIZARD, 2014).

As NK fazem o reconhecimento e destruição das células não-hígidas por meio da ausência da molécula de MHC de classe I na superfície da célula, ou seja, células saudáveis, com o MHC-I não serão fagocitadas, porém, caso sofram lesões e percam, no mínimo, um alelo dessa molécula, serão destruídas pelas NK. Outro mecanismo de fagocitose consiste na recepção de proteínas liberadas pelas células do organismo em caso de estresse celular, fazendo com que as NK as eliminem (TIZARD, 2014).

As CTM secretam PGE2,IDO, TGF- β 1, IL-6 e NO, inibindo a proliferação das NK, prejudicando sua ação citotóxica e diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (WEISS; DAHLKE, 2019).

3.6 Ação angiogênica das CTM

O restabelecimento do suporte sanguíneo em um tecido lesionado é fundamental para sua regeneração. Em vista disso, a angiogênese promovida pelas CTM é de extrema importância na recuperação do tecido (MEIRELLES et al., 2009).

As CTM secretam diversas citocinas que possuem propriedades angiogênicas, como o VEGF, fator de crescimento de fibroblastos (FGF), HGF, IL-6, proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1) e entre outros. Além de serem fatores angiogênicos, a IL-6, VEGF e MCP-1 possuem função anti-apoptótica, que em conjunto, inibem a destruição de células endoteliais em

situações de hipóxia, promovendo a formação de vasos capilares (MEIRELLES et al., 2009).

3.7 Ação anti-fibrótica das CTM

Para que as CTM realizem eficientemente suas propriedades anti-fibróticas, sua aplicação deve ser feita antes que uma fibrose tecidual intensa ocorra (MEIRELLES et al., 2009).

Após uma lesão tecidual, células perivasculares se proliferam e secretam HGF, mediando uma ação anti-fibrótica. As CTM, em resposta ao FGF secretado pelas células lesionadas, também produzem HGF, e quando aplicadas no local de lesão estimulam a produção de HGF pelas células do tecido e outras citocinas anti-fibróticas (MEIRELLES et al., 2009).

**4 CÉLULAS-TRONCO
MESENQUIMAIS NA LESÃO MEDULAR**

A lesão medular, geralmente, acarreta severa disfunção neural, gerando alterações drásticas na vida dos animais, como incapacidade de locomoção, alterações motoras e sensíveis no sistema nervoso, ocasionando perda de sua independência, o que, conseqüentemente, acaba afetando, também, a qualidade de vida dos tutores. Estudos mostram que as CT providenciam uma fonte de células neurais saudáveis para a regeneração do tecido e a secreção de fatores neuroprotetores após a lesão. O uso da terapia com CTM é muito promissora, por sua facilidade de coleta, abundância de material, segurança e princípio ético (KIM et al., 2016; QU; ZHANG, 2017; SONG et al., 2014).

4.1 Lesão medular

As lesões medulares podem ser resultados de diversos fatores, como degeneração, neoplasias, inflamações, traumas e entre outros. Sendo classificadas como lesões agudas, subagudas ou crônicas (NELSON; COUTO, 2015; OLBY, 2010).

Os sinais clínicos da lesão aguda, subaguda ou crônica, variam drasticamente, e dependem, também, do local, da gravidade e de sua progressão. Alguns dos sinais clínicos mais comuns nas lesões medulares são sensibilidade à palpação, ataxia, diminuição da dor profunda e incontinência urinária, porém existem casos crônicos em que sinais neurológicos podem estar ausentes (NELSON; COUTO, 2015; OLBY, 2010).

Os traumas agudos, evoluem de minutos a horas e ocorrem devido a trauma externo, fraturas, doenças vasculares, extrusão do disco intervertebral do tipo I e entre outros. Consiste em uma contusão medular grave com ou sem presença de edema do tecido nervoso, gerando alterações físicas e bioquímicas imediatas. Doenças infecciosas, inflamatórias, metástases, linfomas e discoespongilite são classificadas lesões subagudas, com evolução em dias ou semanas. E as lesões crônicas, com progressão em meses ou anos, são neoplasias, cistos espinais, protrusão do disco intervertebral do tipo II e doenças degenerativas. As lesões agudas podem evoluir para subaguda ou crônica caso a resposta fisiológica ao trauma se estenda (CARVALHO et al., 2013; KIM et al., 2015; NELSON; COUTO, 2015; OLBY, 2010)

O dano primário de qualquer lesão medular, pode gerar quatro tipos de lesão mecânica: a concussão, promovida por um impacto medular gerando disfunções vasculares; a laceração, que consiste no rompimento das meninges medulares e do tecido nervoso, como neurônios e axônios; a compressão, sendo uma diminuição do canal medular ocasionando aumento da pressão sanguínea e isquemia; e o quarto mecanismo, a isquemia, ocasionada pelo trauma físico e exacerbada por fatores vasoativos liberados pelo organismo (CARVALHO et al., 2013; OLBY, 2010).

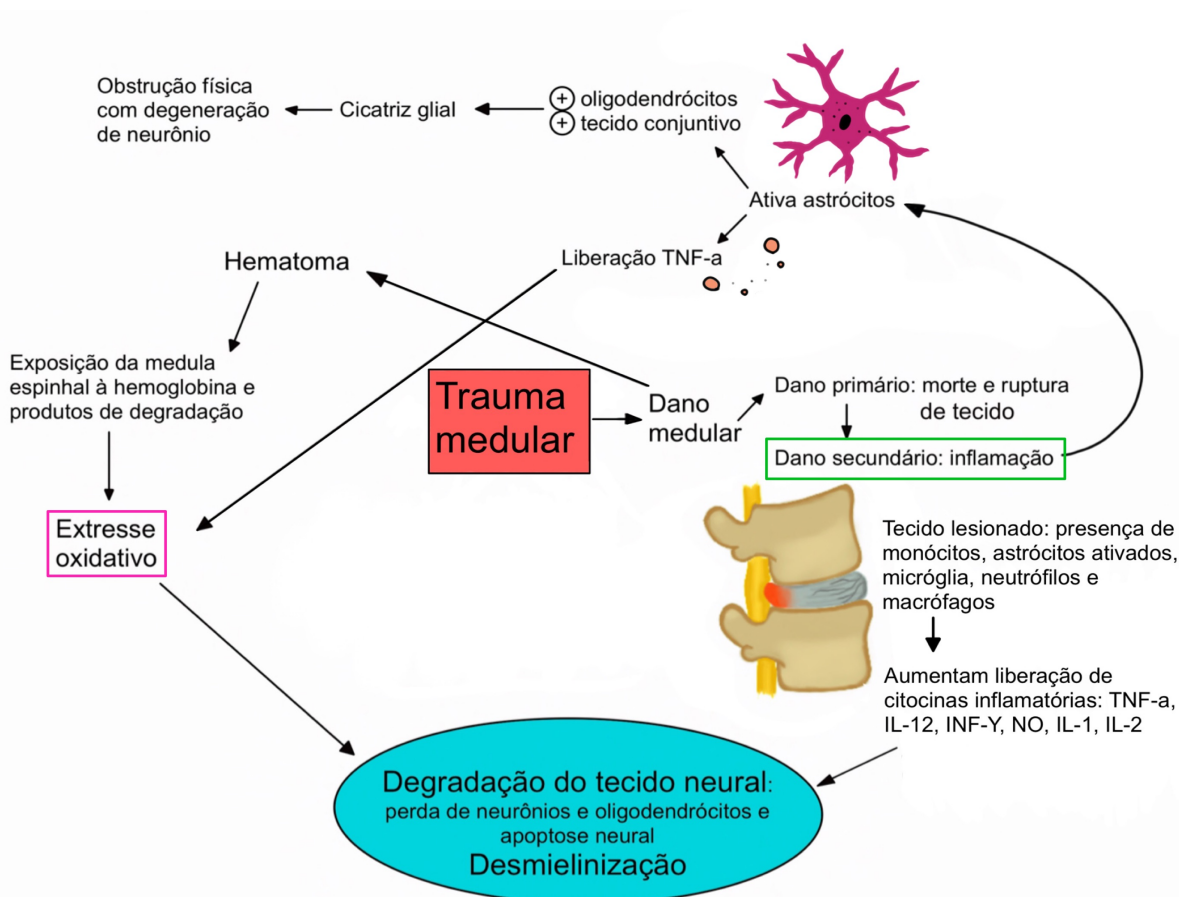
Portanto, o resultado gerado no momento exato do trauma consiste na ruptura de axônios e vasos sanguíneos, e na morte celular de células do tecido nervoso, como neurônios, oligodendrócitos, astrócitos e células endoteliais (OLBY, 2010).

Após o dano primário, uma série de eventos secundários, como hemorragia, hematoma, lesão vascular, mudanças na concentração de íon intracelular, excitotoxicidade, produção de radicais livres, liberação de neurotransmissores excitatórios e, principalmente, inflamação, ocasionam aumento da área de destruição tecidual e apoptose ou necrose das células lesionadas, podendo decorrer por longos períodos após a injúria. A lesão vascular e a inflamação, em conjunto com a acidose láctica, ocasionam necrose hemorrágica da substância cinzenta após 15 minutos do trauma CARVALHO et al., 2013; OLBY, 2010).

De acordo com a Figura 13, após o trauma medular, ocorre a liberação de citocinas pró-inflamatórias pelas células imunes no local da lesão, que desencadeiam respostas inflamatórias com o objetivo fisiológico de destruir as células lesadas gerando degradação do tecido local como um todo, o que afeta a funcionalidade do mesmo. Ocorre também a formação de hematoma, que expõe o tecido nervoso à hemoglobina e a outros produtos da degradação, resultando na liberação de radicais livres. Radicais livres são moléculas instáveis que geram estresse oxidativo no tecido, degradando-o. E após o trauma, células imunes do SNC chamadas de micróglia são ativadas com o objetivo de limpar o hematoma e secretar citocinas pró-inflamatórias (CARVALHO et al., 2013; KIM et al., 2015; TIZARD, 2014).

Após lesões medulares, células nervosas, como neurônios, oligodendrócitos, astrócitos e entre outras, iniciam o processo de apoptose. A morte de oligodendrócitos contribuem para a desmielinização dos axônios e para a perda de função (OLBY, 2010).

Figura 13 – Esquema representativo do mecanismo de trauma medular.



Fonte: própria.

O processo inflamatório na medula lesionada, promove a ativação de astrócitos. Essas células, quando ativadas, liberam citocinas pró-inflamatórias que aumentam a degeneração de neurônios e causando estresse oxidativo. Além disso, os astrócitos, em conjunto com os oligodendrócitos e elementos do tecido conjuntivo formam a cicatriz glial, um processo de proteção do SNC, que gera uma obstrução física para a regeneração de axônios (KIM et al., 2016).

A neuroinflamação aguda gera quadros de dor e atua com o objetivo de preservar a saúde do tecido hígido restante por meio da destruição das células mortas pelo dano mecânico e pela reparação da matriz extracelular, enquanto a

neuroinflamação crônica, por possuir menor limiar de dor, estimula o sistema imune a agir nas células locais por mais tempo, gerando uma inflamação contínua, prejudicial ao tecido (GALINDO, 2011).

A dimensão dos eventos citados, determina a perda progressiva de neurônios e oligodendrócitos, a desmielinização dos axônios, a tentativa de regeneração celular local e a apoptose neural. Em casos muito evoluídos ou sem tratamento prévio, é improvável a recuperação neurológica do paciente (CARVALHO et al., 2013; KIM et al., 2015).

4.2 CTM na lesão medular

Durante anos, médicos consideravam que a célula nervosa era permanente e incapacitada de realizar regeneração, porém com a descoberta de novas terapias celulares, foi apresentado que as CT possuem um grande potencial para o tratamento de lesões no SNC, como por exemplo, seu uso em tratamentos para a Doença de Parkinson (SONG et al., 2014).

Autores como Tsiapalis e O'Driscoll (2020), Song et al. (2014), Gowen et al. (2020), apontaram o transplante de CTM originadas da medula óssea como uma fonte muito promissora para o tratamento de lesões no SNC e outras diversas doenças neurodegenerativas, gerando recuperação neurológica funcional aos indivíduos.

O objetivo da terapia com CTM em casos de lesão medular é diminuir a morte de células neurais, reduzir a cavitação cística e cicatrizes no local, recuperar as células neurais hígdas e estimular a regeneração de axônios funcionais, gerando uma remodelação do nicho tecidual injuriado, melhorando a função motora dos membros (KIM et al., 2015; KIM et al., 2016; QU; ZHANG, 2017).

Uma função extremamente importante das CTM na lesão medular, é sua ação neuroprotetora, realizada por meio da secreção de fatores neurotróficos, que irão promover o reparo do tecido neural e a inibição da formação de cicatrizes na medula. Os mecanismos parácrinos das CTM, como liberação de

GF, moléculas anti-apoptóticas e citocinas anti-inflamatórias, providenciam um microambiente favorável para que ocorra a regeneração neuronal, remielinização de axônios e melhora na circulação sanguínea do tecido nervoso (KIM et al., 2016; SONG et al., 2014; UCCELLI et al., 2011).

Diversos pesquisadores evidenciaram que as CT neurais possuem a capacidade de estabelecer uma nova conexão sináptica no local da lesão, favorecer o microambiente tecidual pela secreção de fatores neurotróficos e estimular a regeneração da bainha de mielina em axônios de neurônios, restaurando assim, a condução elétrica nervosa do tecido (KIM et al., 2016; SONG et al., 2014).

Para que as CTM realizem suas funções, elas devem possuir a capacidade de migrar até o tecido lesionado, caso aplicadas pela via intravenosa ou, devem se incorporar à medula espinhal do animal quando administradas na lesão ou próximo a ela (QU; ZHANG, 2017).

Qu e Zhang (2017), apresentaram um estudo demonstrando que o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) é um dos principais fatores que regulam a migração das CTM transplantadas aos tecidos injuriados da lesão medular.

Após a lesão medular inicial, ocorre uma resposta inflamatória, envolvendo células imunes como neutrófilos, macrófagos e linfócitos T, e fatores bioativos como citocinas e prostaglandinas. O infiltrado de neutrófilos presente na lesão, secreta citocinas, com o objetivo de estimular a inflamação. Os macrófagos recrutados, quando no tecido lesionado, liberam TNF- α , interleucinas e interferon (INF), exacerbando a resposta inflamatória e lesando o tecido nervoso (CARVALHO et al., 2013; TIZARD, 2014).

Como discutido anteriormente, as CTM possuem intensa resposta a estímulos inflamatórios, quimiotáticos, quimiocinas, citocinas e diversos GF, como VEGF, HGF e entre outros, todos esses secretados por células lesionadas. A reação das CTM, após esses estímulos, desencadeia diversas de suas ações, como anti-inflamatória e imunoregulatória, para que haja recuperação do tecido (CAPLAN; DENNIS, 2006; KIM et al., 2016; MONTEIRO; NETO; del CARLO, 2010; QU; ZHANG, 2017).

O transplante de CTM estimula sua ação antiapoptótica na lesão medular por elevar a expressão de alguns fatores que promovem uma melhora na migração de outras células ao local e na recuperação após a lesão por mediar a migração de mais CTM originadas da medula óssea do próprio animal. Essas células expressam também multi neurotrofinas que geram uma recuperação da função sensorial do animal por promover crescimento axonal após a lesão. Neurotrofinas como NT-3 (neurotrofina-3) têm sua expressão aumentada pelas CTM atuando como fatores de regeneração nervosa, favorecendo a recuperação do paciente (QU; ZHANG, 2017).

Song et al. (2014), realizaram uma pesquisa induzindo 40 ratos da raça Wistar a uma lesão medular aguda, onde 20 deles representavam o grupo controle que receberam soro fisiológico como placebo e os outros 20 receberam o transplante de CTM derivadas da medula óssea. Após 8 semanas do experimento, duas proteínas importantes foram mensuradas nos dois grupos, o fator de crescimento nervoso (NGF) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). O NGF é uma proteína com capacidade de promover e manter o crescimento nervoso, sua sobrevivência e sua funcionalidade, além de resguardar os neurônios injuriados. E o BDNF, que apresenta inúmeras funções importantes, como proteger os neurônios motores da medula espinhal após uma lesão. Após o transplante das CTM no grupo designado, a expressão dessas duas proteínas se apresentou notavelmente mais elevada quando comparado aos valores expressos pelo grupo controle. Além disso, a recuperação da função motora nos membros posteriores dos ratos que receberam o transplante, foi muito mais eficaz que a recuperação dos animais do grupo controle, concluindo assim, que as CTM conseguem estimular o reparo da medula lesionada.

Outros estudos observaram que as CTM, quando transplantadas em ratos com encefalomielite autoimune, secretaram neurotrofinas como a BDNF que estimulou oligodendrócitos a restabelecer sua mielinização, favorecendo a condução de estímulos elétricos (SONG et al., 2014; UCCELLI et al., 2011).

O HGF secretado pelas CTM exerce funções importantes na regeneração de tecido nervoso, como estimulação do crescimento axonal e melhora na recuperação das funções motoras, gera também supressão da desmielinização dos axônios, da apoptose e do rompimento da barreira hematoencefálica,

preservando a homeostase (MONTEIRO; NETO; del CARLO, 2010; QU; ZHANG, 2017).

Como discutido anteriormente, as citocinas e os fatores bioativos envolvidos na terapia celular, são de grande importância para o sucesso do tratamento. Citocinas como as IL-4, IL-13, IL-10 são secretadas ou estimuladas pelas CTM, gerando uma resposta anti-inflamatória. Já o TNF- α , o INF- γ e a IL-12, de ação pró-inflamatória, têm sua produção reduzida pelas CTM. Outros fatores secretados pelas CTM, como TGF- β e PGE2 em conjunto com a IL-10, inibem a proliferação de linfócitos que atuam na inflamação do tecido (AGGARWAL; PITTENGER, 2005; CHO et al., 2014; QU; ZHANG, 2017; WEISS; DAHLKE, 2019).

Outra habilidade apresentada pelas CTM é sua capacidade de resgatar neurônios do processo de apoptose no cultivo *in vivo* em ratos com encefalomielite autoimune, promovendo a redução da perda de axônios em conjunto com seu mecanismo de imunossupressão (UCCELLI et al., 2011).

Em um estudo para esclerose lateral amiotrófica, feito com ratos, a administração de CTM na porção lombar da medula espinal, possibilitou uma melhora na sobrevivência de neurônios motores. Como resultado, o desempenho motor dos animais, melhorou (UCCELLI et al., 2011).

No SNC, as micróglia possuem função fagocítica e, após ativadas, realizam a liberação de moléculas pró-inflamatórias, como TNF, IL-1, NO e entre outras. Essas moléculas estão associadas com a patogenia da lesão neural, que resulta em isquemia, inflamação, permeabilidade da barreira hematoencefálica e na neurodegeneração. A partir disso, as CTM secretam fatores neurotróficos que inibem a ativação da micróglia e a liberação de seus fatores inflamatórios, promovendo a neuroproteção no tecido (OLBY, 2010; UCCELLI et al., 2011).

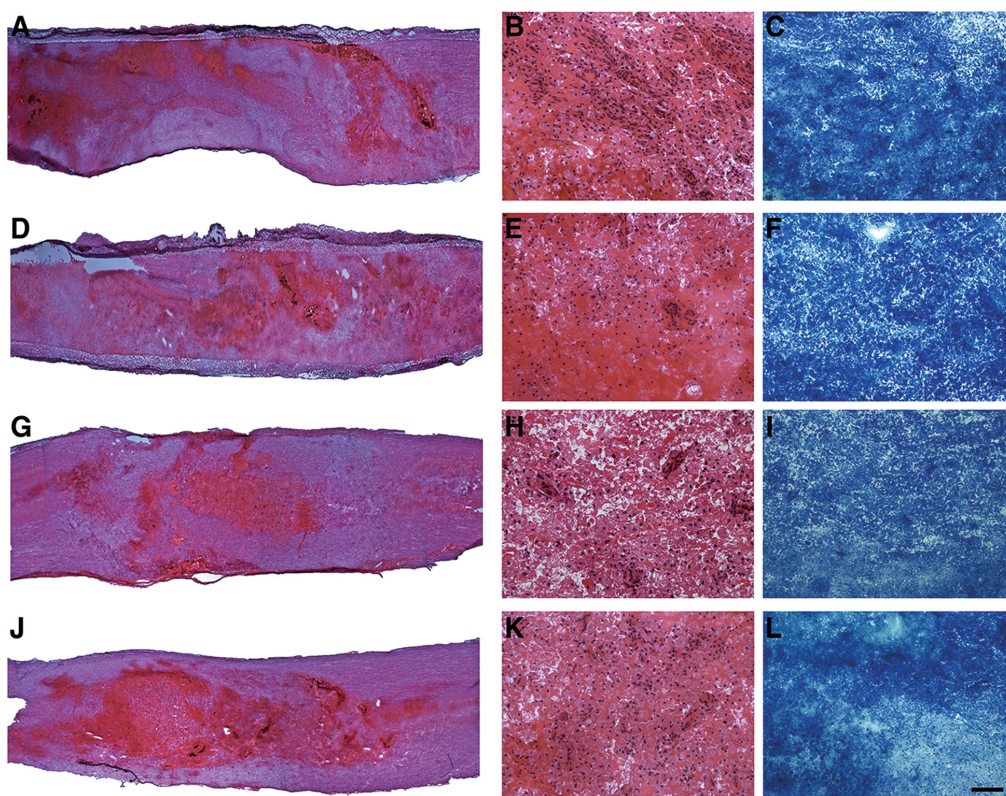
As CTM impedem então uma segunda fase de lesão neuronal pelos linfócitos e por outras células imunes, reduzindo a inflamação no tecido local do trauma medular. Portanto, compreende-se que a preservação de neurônios pós-lesão, consiste na secreção de citocinas pelas CTM e por sua ação imunomodulatória (QU; ZHANG, 2017).

Um estudo, realizado na Coréia do Sul, com o objetivo de avaliar o uso de CTM originadas do tecido adiposo para tratamento alternativo em cães com lesão medular aguda ao invés do glicocorticoide neuroprotetor MPSS (do inglês *methylprednisolone sodium succinate*), utilizou 17 cães saudáveis da raça Beagle, entre 2 e 3 anos de idade. 16 cães foram separados em 4 grupos diferentes: grupo controle (não tratados após a lesão); grupo MPSS (administração de MPSS após a lesão); grupo AD-MSCs (administração de CTM oriundas do tecido adiposo após a lesão); e o grupo AD-MSCs + MPSS (administração de MPSS e das CTM após a lesão). Um cão foi utilizado para a avaliação da distribuição das CTM no corpo do animal após administração. Após a apuração dos dados finais, foi observado que a administração de CTM oriundas do tecido adiposo promoveu uma melhora importante nos sinais clínicos dos pacientes, como presença de função motora nos membros posteriores dos animais. As CTM inibiram, seletivamente, a glicoproteína cicloxigenase-2 (COX-2), de ação inflamatória. Essas células apresentaram também atividade antioxidativa, reduziram sangramento intraparenquimal e migração de micróglia para o sítio lesionado e diminuíram a expressão de metabólitos oxidativos, como observado na Figura 14. Portanto as CTM reduziram a neurotoxicidade do tecido e protegeram as células locais de sofrerem apoptose (KIM et al., 2015).

Outro estudo realizado por Kim et al. (2016), com o objetivo de aprimorar o tratamento em cães com doença do disco intervertebral na região toracolombar com ausência de dor profunda, utilizaram 34 cães, separados em dois grupos: 25 animais foram submetidos a cirurgia de descompressão das hérnias; e os outros 9 cães foram submetidos a cirurgia de descompressão e em seguida, tratados com CTM derivadas do tecido adiposo. Os autores apresentaram que a taxa de melhora clínica dos animais do segundo grupo, com o valor de 77,8%, foi bem mais elevada que a taxa de melhora clínica do primeiro grupo, com o valor de 52%, como exemplificado no Quadro 2. Dos 77,8% dos animais do segundo grupo, 55,6% dos cães apresentaram recuperação total da dor profunda e melhora dos sinais clínicos. Portanto, os dados mostraram que o tratamento composto pela cirurgia de descompressão em conjunto ao transplante de CTM apresentaram resultados satisfatórios em cães com doença do disco intervertebral com ausência de dor profunda. A melhora clínica após o

transplante de CTM é resultado de sua ação anti-inflamatória e neuroprotetora, garantindo a sobrevivência das células nervosas endógenas.

Figura 14 - Análise histológica das lesões medulares dos cães.



Colorações H&E e azul rápida Luxol. Imagens A-C: grupo controle; D-F: grupo MPSS; G-I: grupo AD-MSCs; e J-L: grupo AD-MSC-s + MPSS. Na coloração H&E (imagens A, D, G, J) todos os grupos apresentaram hemorragia e infiltração de células da micróglia na área da lesão. Imagens B, E, H, K mostram que o parênquima lesionado da medula é composto por neurônios desmielinizados, restos celulares, leve fibrose e hemorragia. Após a análise das imagens, o grupo AD-MSCs apresentou hemorragia em menor quantidade e respostas inflamatórias menores quando comparado aos outros grupos. Porém, todos os grupos revelaram severa desmielinização de fibras nervosas na lesão, observado pela coloração de Luxol C, F, I, L.

Fonte: Kim et al. (2015, p. 6).

Quadro 2 – Resultado clínico do estudo de 34 cães com doença aguda do disco intervertebral e ausência de dor profunda.

RESULTADO CLÍNICO		Cirurgia para descompressão de hérnias (n = 25)	Descompressão + AD-MSCs (n = 9)
Sucesso	Recuperação total	4 (16%)	5 (55,6%)
	Melhora clínica	9 (36%)	2 (22,2%)
Fracasso		12 (48%)	2 (22,2%)

Fonte: adaptado Kim et al. (2016, p. 125).

Em humanos, foi observado que as CTM, quando aplicadas, geram depósito de fibronectina no tecido, uma proteína conhecida por estimular crescimento axonal e alongamento neuronal, além da regeneração da fibra nervosa. A laminina é uma outra glicoproteína que induz o crescimento axonal, e além disso, alguns artigos sugerem que essa proteína é um fator parácrino importante, que regula os efeitos regenerativos das CTM em uma lesão medular (QU; ZHANG, 2017).

O tratamento com CTM na lesão medular tem como objetivo diminuir os sinais clínicos da doença por restaurar a homeostase tecidual, e isso é obtido pela minimização dos danos secundários causados pelo trauma pela ação das CTM na lesão, providenciando neuroproteção ao tecido e estimulando a regeneração neuronal por diversos mecanismos, como diminuição da inflamação, aumento da sobrevivência das células nervosas, redução da formação de fibrose e estimulando a proliferação e migração de outras células promovendo a regeneração do tecido neural (KIM et al., 2015).

**5 CONSIDERAÇÕES
FINAIS**

Foi realizado uma consideração rápida sobre as funções e anatomia da coluna vertebral, da medula espinhal e das principais células do Sistema Nervoso Central. O objetivo foi alcançado, pois fundamentou a importância dessas estruturas para o funcionamento do sistema nervoso e do sistema locomotor do animal, evidenciando a correlação entre os dois sistemas, proporcionando assim, continuidade à dissertação.

Foi apresentado a definição de células-tronco e como ocorre sua diferenciação em múltiplas linhagens. Em seguida, iniciou-se a dissertação sobre os tipos de tecidos originados pelas células-tronco mesenquimais, essenciais para o organismo do animal, além de seu uso terapêutico em doenças, lesões, envelhecimento fisiológico, manutenção da homeostase e reparação tecidual. Logo após, seu uso terapêutico foi fundamentado pela consideração de suas ações autócrina e parácrina, e além dessas, suas ações imunomodulatória, anti-inflamatória, imunossupressora, angiogênica e anti-fibrótica, seguidas de suas funções. Deste modo, o objetivo foi alcançado, pois todas as ações das células-tronco mesenquimais foram descritas, junto de suas funções, indicando seu uso favorável em diversas utilizações terapêuticas, o que foi discutido em seguida.

No capítulo final, foi brevemente descrito algumas situações que levam à lesão medular e alguns de seus sinais clínicos. Em seguida, sua patogenia e fisiopatologia é apresentada, dando ênfase no processo inflamatório originado pela lesão medular. Por fim, o objetivo do tratamento com células-tronco mesenquimais em lesões medulares foi identificado e a função neuroprotetora realizada por essas células foi apresentada, além de outros diversos métodos de ação dessas células em casos semelhantes. Para evidenciar a ação benéfica das células-tronco mesenquimais em lesões medulares, diversos estudos científicos foram apresentados, explanando os resultados de suas pesquisas. A partir disso, o objetivo foi alcançado, pois os artigos citados relataram que os animais tratados com células-tronco mesenquimais, apresentaram evidências de melhora clínica e percebeu-se preservação do tecido medular e diminuição da inflamação local.

Em conclusão, os objetivos gerais da revisão literária foram alcançados, porém ainda há uma vasta área de pesquisa a ser desvendada dentro deste tema, pois, mesmo que as ações das células-tronco mesenquimais sejam

conhecidas, muitas delas ainda não foram detalhadamente descritas.

7 REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. H. I. V. **Imunologia celular e molecular**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

AGGARWAL, Sudeepta; PITTENGER, Mark F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. **Blood**, v.105, n. 04, p.1815-1822, 2005.

ALVARADO, Alejandro S. Stem Cells: time to check our premises. **Cell Stem Cell**, vol. 3, p. 25-29, 2008.

ALVES, Endrigo G. L. et al. Isolamento e cultivo de células tronco mesenquimais extraídas do tecido adiposo e da medula óssea de cães. **Cienc. Anim. Bras.**, Goiânia, vol. 18, p. 1-14, 2017.

BARROS, Michele Andrade. **Avaliação do transplante alogênico de células tronco mesenquimais isoladas de tecido adiposo em cães portadores de sequela neurológica causada pela cinomose**. 2017. 126 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2017.

BYDLOWSKI, Sergio P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, v. 31, supl. 1, p. 25-35, 2009.

CAPLAN, Arnold I. Mesenchymal Stem Cells. **Journal of Orthopaedic Research**, vol. 9, n. 5, p. 641-650, 1991.

CAPLAN, Arnold I.; DENNIS, James E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. **J. Cell. Biochem.**, vol. 98, n. 5, p. 1076-1084, 2006.

CAPLAN, Arnold I. Mesenchymal Stem Cells: time to change the name! **Stem Cells Transl. Med.**, vol. 6, n. 6, p. 1445-1451, 2017.

CARVALHO, P. H. et al. Fisiopatologia e considerações terapêuticas no trauma medular agudo. In: **Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia da UFMG: neurologia em cães e gatos**. n. 69. Belo Horizonte: FEP MVZ editora, 2013. p. 86-97.

CHO, D.I. et al. Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. **Exp. Mol. Med.**, v. 46, n. 1, p. e70, 2014.

DYCE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W. O. **Tratado de anatomia veterinária**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

EVANS, Howard E.; de LAHUNTA, Alexander. **Guide to the Dissection of the Dog**. 7ª ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2010.

GALINDO, Layla T. **Imunomodulação promovida pelo transplante de células tronco mesenquimais derivadas da medula óssea lesões no sistema nervoso central**. 2011. 72 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2014.

GOWEN, A. et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles: Challenges in Clinical Applications. **Front. Cell Dev. Biol.**, vol. 8, n. 149, p. 1-8, 2020.

HERZOG, E.L.; CHAI, L.; KRAUSE, D.S. Plasticity of marrow-derived stem cells. **Blood**, v. 102, n. 10, p. 3483-3493, 2003.

JÚNIOR, D. Mesquita. et al. Sistema Imunitário – Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Ver. Bras. Reumatol.**, vol. 50, n. 5, p. 552-580, 2010.

KIM, Y. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of intravenously injected adipose derived mesenchymal stem cells in dogs with acute spinal cord injury. **Stem Cell Res. Ther.**, vol. 6, n. 229, p. 1-10, 2015.

KIM, Y. et al. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs. **J. Vet. Sci.**, vol. 17, n. 1, p. 123-126, 2016.

KONIG, Horst E.; LIEBICH, Hans-Georg. **Anatomia do Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

LEMISCHKA, I. R. Stem Cell Biology: a view toward the future. **Ann N. Y. Acad. Sci.**, vol. 1044, p. 132-138, 2005.

LUCENA, E. E. de Souza. **Plasticidade de células tronco mesenquimais de medula óssea de ratos na presença de meio condicionado do nervo facial e do fator de crescimento fibroblástico 2**. 2014. 101 f. Tese (Doutorado em Estudos de Comportamento; Psicologia Fisiológica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

MARX, Camila. et al. Acupoint injection of autologous stromal vascular fraction and allogeneic adipose-derived stem cells to treat hip dysplasia in dogs. **Stem Cells Int.**, vol. 2014, p. 1-6, 2014.

MEIRELLES, L. da Silva; CHAGASTELLES, P. C.; NARDI, N. B.. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. **Journal of Cell Science**, v.119, n. 11, p. 2204-2213, 2006.

MEIRELLES, L. da Silva; CAPLAN A.I.; NARDI N.B. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. **Stem Cells**, v. 26, n. 9, p. 2287-2299, 2008.

MEIRELLES, L. da Silva. et al. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. **Cytokine & Growth Factor Rev.**, v. 20, n. 5-6, p. 419-427, 2009.

MIAO, Z. et al. Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. **Cell Biology International**, v. 30, n. 9, p. 681–687, 2006.

MONTEIRO, Betânia S.; NETO, Napoleão M. A.; del CARLO, R. J. Células-tronco mesenquimais. **Cienc. Rural**, v. 40, n. 1, p. 238-245, 2010.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

OLBY, N. The pathogenesis and treatment of acute spinal cord injuries in dogs. **Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.**, vol. 40, n. 5, p. 791-807, 2010.

PITTENGER, Mark F. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. **Science**, vol. 284, n. 5411, p. 143-147, 1999.

QU, J.; ZHANG, H. Roles of Mesenchymal Stem Cells in Spinal Cord Injury. **Stem Cells Int.**, vol. 2017, p. 1-12, 2017.

RAFFAGHELLO, L. et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. **Stem Cells**, v. 26, n. 1, p. 151-162, 2008.

ROSSI, S. L.; KEIRSTEAD, H. S. Stem cells and spinal cord regeneration. **Current Opinion in Biotechnology**, vol. 20, n. 10, p. 552-562, 2009.

SANTOS, Enrico. Biologia das células-tronco mesenquimais de felinos obtidas a partir de nichos presentes no tecido adiposo para a aplicação terapêutica na medicina veterinária. **Rev. Elet. Cient. UERGS**, vol. 4, n. 3, p. 368-379, 2018.

SARMENTO, C. A. P. **Utilização de células tronco da medula óssea de fetos caninos em cães adultos com lesão medular crônica toracolombar**. 2012. 84 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SMITH, Bonnie J. **Canine Anatomy**. 1ª ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

SONG, Q. et al. Therapeutic effect of transplanting bone mesenchymal stem cells on the hind limbs' motor function of rats with acute spinal cord injury. **Int. J. Clin. Exp. Med.**, vol. 7, n. 1, p. 262-267, 2014.

De SOUZA, C. F. et al. Células-Tronco Mesenquimais: Células Ideais para a Regeneração Cardíaca? **Rev. Bras. Cardiol. Invasiva**, vol. 18, n. 3, p. 344-353, 2010.

TIZARD, Ian R. **Imunologia Veterinária**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

TOOMBS, J. P.; WATERS, D. J. Intervertebral disc disease. In: SLATTER, Douglas H. (Ed.) **Textbook of Small Animal Surgery**. vol. 1. 3ª ed. Filadélfia: Saunders Elsevier, 2003, p.1193-1208.

TSIAPALIS, D.; O'DRISCOLL, L. Mesenchymal Stem Cell Derived Extracellular Vesicles for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications. **Cells.**, vol. 9, n. 991, p. 1-27, 2020.

UCCELLI, A. et al. Neuroprotective features of mesenchymal stem cells. **Best Pract. Res. Clin. Haematol.**, vol. 24, n. 1, p. 59-64, 2011.

WEISS, A.R.R.; DAHLKE, M.H. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. **Frontiers in Immunol.**, v. 10, n. 1191, 2019.

YARAK, S.; OKAMOTO, O. K. Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas. **An. Bras. Dermatol.**, v. 85, n. 5, p. 647-656, 2010.

ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013

ZUK, P. A. et al. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. **Molecular Biology of the Cell**, vol. 13, n. 12, p. 4279-4295, 2002.