

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SUL DE MINAS
MEDICINA VETERINÁRIA
ANA PAULA DA SILVA

CINOMOSE CANINA E TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS COM
CÉLULAS TRONCO

VARGINHA - MG
2021

ANA PAULA DA SILVA

**CINOMOSE CANINA E TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS COM
CÉLULAS TRONCO**

Trabalho apresentado ao curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário do Sul de Minas como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel, sob orientação da Prof. Sávio Tadeu Almeida Júnior

VARGINHA - MG

2021

ANA PAULA DA SILVA

**CINOMOSE CANINA E TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS COM
CÉLULAS TRONCO**

Monografia apresentada ao curso de Medicina
Veterinária do Centro Universitário do Sul de
Minas, como pré-requisito para obtenção do grau
de Bacharel pela Banca Examinadora composta
pelos membros:

Aprovado em 00/ 00/ 00

Prof. Savio Tadeu Almeida Júnior
Orientador

Profa. Laís Melicio Bueno

Profa. Luciane Tavares Cunha

OBS.:

Dedico este trabalho a Deus, por ter me acompanhado ao longo de minha vida e de forma especial, durante minha trajetória acadêmica. E também aos meus pais, que sempre apoiaram o meu sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir a realização do meu sonho, por estar comigo em todos os momentos, pelas oportunidades e pelas pessoas que colocou em meu caminho. Agradeço aos meus pais Maria Nilza de Jesus e José Vieira da Silva, que sempre me apoiaram, mesmo distantes, que me ensinaram o valor do abraço, do sorriso, da família, do “Deus te abençoe” e do “eu te amo” sincero. Aos meus irmãos José Carlos Barbosa e Djalma Antônio Barbosa, por serem meus grandes amigos e companheiros para todas as horas. Agradeço aos amigos Virginia de Almeida, por estar comigo desde a infância e por permanecer ainda hoje. E também aos amigos que fiz durante esses cinco anos de faculdade Laura Souza Carvalho, durante esses anos, ela foi uma excelente amiga. Os levarei sempre no coração e nas orações. Aos meus professores, em especial a profa. Luciane Tavares Cunha que me ajudou muito em toda orientação e a todos prof. que compartilharam o conhecimento, por serem atenciosos e por se dedicarem a arte de ensinar, agradeço de forma especial a Prof. Savio Tadeu Almeida Júnior pela orientação para me ajudar a concluir este trabalho. Agradeço ao médico veterinário e amigo José Eduardo Mambeli Balieiro que me deu a oportunidade de crescer meus conhecimentos, que confiou na minha capacidade, e a médica veterinária Marisley Camillo Neves que me deu oportunidade de ampliar meus conhecimentos durante meu estágio com ela. A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

‘’ A realização  a beatitude que não consiste em amar, mas em fluir daquilo que  amado e desejado. Todo amor  tensão dirigida para esta fruição. No entanto ninguém  feliz se não fluir do que ama. [...] Fruir  estar perto do objeto desejado, firme e sem quietude. (ARENDR, 1997).

RESUMO

A cinomose é uma doença viral infecto contagiosa, multissistêmica causada por um RNA vírus do gênero Morbillivirus, afetando carnívoros domésticos e selvagens. Tendo alta capacidade imunossupressora, caracterizada por fase respiratória, digestiva, e neurológica, sendo que nesta última fase pode apresentar sinais permanentes como ataxia, miocronia, paraplegia e convulsões. Acomete normalmente animais não vacinados, ou com vacinas com dose incompleta, colostro materno com anticorpos baixos e contato com animais infectados. A transmissão é feita por aerossóis, secreções e excreções corpóreas dos animais infectados. Tendo uma resposta imunológica baixa, levando a manifestações clínicas caracterizadas por distúrbios gastroentéricos, oftalmológicos, dermatológicos, respiratórios e neurológicos. O diagnóstico foi feito através do histórico do animal, exame clínico e laboratoriais. O tratamento é de suporte, conforme a clínica apresentada. A profilaxia além da vacinação, ingestão de colostro, higienização do ambiente, e isolamento dos animais infectados. Este estudo tem como objetivo mostrar que a implantação de células-tronco no tratamento das sequelas neurológicas da cinomose tem resultado positivo na recuperação dos animais que foram afetados.

Palavras-chave: vírus; imunossupressão; células mesenquimais.

ABSTRACT

Distemper is a multi-systemic infectious, contagious viral disease caused by an RNA virus of the genus Morbillivirus, affecting domestic and wild carnivores. It has a high immunosuppressive capacity, characterized by respiratory, digestive and neurological phases, and in this last phase, it can present permanent signs such as ataxia, myochrony, paraplegia and seizures. It normally affects unvaccinated animals, or with incomplete dose vaccines, maternal colostrum with low antibodies and contact with infected animals. Transmission is by aerosols, secretions and body excretions from infected animals. Having a low immune response, leading to clinical manifestations characterized by gastroenteric, ophthalmological, dermatological, respiratory and neurological disorders. The diagnosis is made through the animal's history, clinical and laboratory exam. Treatment is supportive, according to the clinic presented. Prophylaxis in addition to vaccination, ingesting colostrum, cleaning the environment, and isolating infected animals. This study aims to show that the implantation of stem cells in the treatment of neurological sequelae of distemper has positive results in the recovery of animals that were affected.

Keywords: virus; inmunosupresión; mesenchymal cells.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática da estrutura de um Morbillivirus.	15
Figura 2. Fase inicial da patogenia da cinomose canina	18
Figura 3. Fase de disseminação da cinomose canina	18
Figura 4. Cão com secreção nasal mucopurulenta causada pela esgana	19
Figura 5. Cão infectado pelo CDV apresentando secreção nasal e hiperqueratose em plano nasal	20
Figura 6. Cão com cinomose apresentando dermatopatias	20
Figura 7. Hiperqueratose em conxins cão com cinomose	20
Figura 8. Cão com hiperplasia na gengiva	21
Figura 9. Canil com aglomeração de cães.	21
Figura 10 Teste rápido cinomose.	22
Figura 11. Teste rápido cinomose orientações	23
Figura 12. Resultado positivo, teste rápido cinomose.	23
Figura 13. Resultado negativo, teste rápido cinomose	23
Figura 14. Esquema representativo da divisão simétrica e assimétrica das Células-tronco	26
Figura 15. Esquema de obtenção de CTM a partir de medula óssea e a capacidade de diferenciação em diversos tecidos	27
Figura 16. Encontrada no embrião no estágio blastocisto (4 a 5 dias após fecundação). Em vermelho massa celular interna (CTE)	29
Figura 17. Ação células- tronco SNC	29
Figura 18. Procedimento retirada CTMs	31
Figura 19. Teratoma, devido ao crescimento desacelerado das células- tronco no	

organismo	32
Figura 20. Animal com sequela recente de cinomose canina, apresentando paraplegia e incoordenação de membros pélvicos, com visível atrofia muscular	33
Figura 21. Animal mostrado na figura 1, duas semanas após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, no entanto, o animal apresentava ainda déficit proprioceptivo	33
Figura 22. Animal mostrado na figura 1, duas semanas após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, no entanto, o animal apresentava ainda déficit proprioceptivo	33
Figura 23. Animal com sequela recente de cinomose canina, apresentando paraplegia e incoordenação de membros pélvicos, com escoriações por decúbito	34
Figura 24. Animal mostrado na figura 2, 43 dias após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, com recuperação completa da musculatura. O animal recuperou completamente a capacidade proprioceptiva	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudo de caso de 11 cães com cinomose, 5 cães doadores, na terapia com Células – tronco

30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SNC – Sistema Nervoso Central

CDV -Canine Distemper Vírus

DMSO- Dimetil sulfóxido

TC- Terapia celular

CT- Células- tronco

CTH- Células- tronco hematopoiéticas

DMEM- Dulbecco

CTMs- Células- tronco mesenquimais

AG- Antígeno

AC- Anticorpos

VCC- Vírus cinomose canina

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
SUMÁRIO	12
INTRODUÇÃO	13
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Cinomose	14
2.2 Etiologia	14
2.2.1 Proteína hemaglutinina	15
2.2.2 Proteína de fusão	15
2.2.3 Proteína de matriz (M)	15
2.2.4 Nucleoproteína (N)	16
2.2.5 Grande(Large) polimerase	16
2.2.6 Fosfoproteína	16
2.2.7 Proteína V e C	16
2.3 Fisiopatologia	17
2.4 Sintomatologia	19
2.5 Vias transmissão	21
2.6 Diagnóstico	22
2.7 Tratamento	24

2.8 Profilaxia	24
2.9 Células-tronco	25
2.9.1 Células-tronco mesenquimais (CTM)	26
2.9.2 Células- tronco embrionárias	28
2.9.3 Protocolo de Terapia Celular	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A cinomose é uma doença infectocontagiosa, causada por um Morbillivirus da família *Paramyxoviridae*. Apresenta RNA com fita helicoidal de sentido negativo, possuindo envelope de lipoproteína, fazendo com que o vírus induza a fusão celular e citólise imunomediada das células infectadas. Interfere na produção de ocitocinas acarretando a imunossupressão do animal (GREENE, 2011; NELSON et al., 2015; PRATAKPIRIYA, 2017).

Acomete normalmente animais carnívoros como cães, raposas, guaxinins, ferrets, hienas, leões, tigres, pandas vermelhos e focas (CUBAS et al., 2014; JERICÓ et al., 2015).

Apresenta sinais clínicos distintos, sendo distinguidas por aguda e subaguda e crônica, com manifestações respiratórias, gastrointestinais e neurológicas (Brito et al., 2016).

As infecções derivadas da cinomose canina, o vírus pode atingir o encéfalo (MORO et al, 2004), podendo causar lesões degenerativas ou inflamatórias no Sistema Nervoso Central (SNC) (SHERDING, 2008). Os sinais clínicos da infecção do SNC, pela cinomose canina, em grande parte são permanentes, incluindo imobilidade, hiperestesia, tremores, andar em círculos, convulsões parciais e generalizadas e mioclonias (SHERDING, 2008).

O diagnóstico inclui o histórico do animal, RT-PCR, Imunofluorescência indireta, ELISA, exame histopatológico, visualização de corpúsculos de inclusão (Lentz) em esfregaço sanguíneo periférico. Estes corpúsculos de Lentz são resquícios da replicação viral depositadas na célula, ficando intracelular, com características eusinofílica (JERICÓ et al., 2015). A evidência que o vírus tem semelhança ao vírus do sarampo. É instável no ambiente, não sobrevive longo tempo fora do hospedeiro, podendo ser destruído pelo ressecamento, luz, calor e desinfetantes.

Segundo Greene e Vandeveld (2015) “o vírus da cinomose é sensível à luz ultravioleta, ao calor e ao ressecamento, facilitando a desinfecção dos locais e fômites que tiveram contato com animais que contraíram a doença”.

O objetivo do trabalho foi mostrar que a implantação de células-tronco no tratamento das sequelas neurológicas da cinomose tem resultado positivo na recuperação dos animais que foram afetados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cinomose

A cinomose é altamente contagiosa, viral, seu agente pertence à família *Paramyxoviridae*, do gênero *Morbillivirus* (SILVA et al., 2009).

Os primeiros relatos sobre a cinomose são desde 1746 na América do Sul, em 1760 na Espanha, em seguida Inglaterra, Rússia e Itália. Em 1763 houve um surto em Madri, onde morreram cerca de 900 cães em um só dia. Somente em 1853 houve a teoria que a cinomose canina poderia ter sido importada do Peru para Europa, com a entrada dos colonizadores espanhóis no século XVII (MARTINS; LOPES; FRANÇA, 2019).

O agente causador da doença foi isolado em um cão no começo do século XX (CARRÉ, 1905). Somente a partir dos anos 60 começou o surgimento das vacinas (SILVA, 2004).

A doença já foi diagnosticada em animais selvagens no Brasil, como lobo-guará, sendo estudado de 1989 a 1993, sendo um total de 19 mortes em 108 casos, por cinomose (GOMES, 2006).

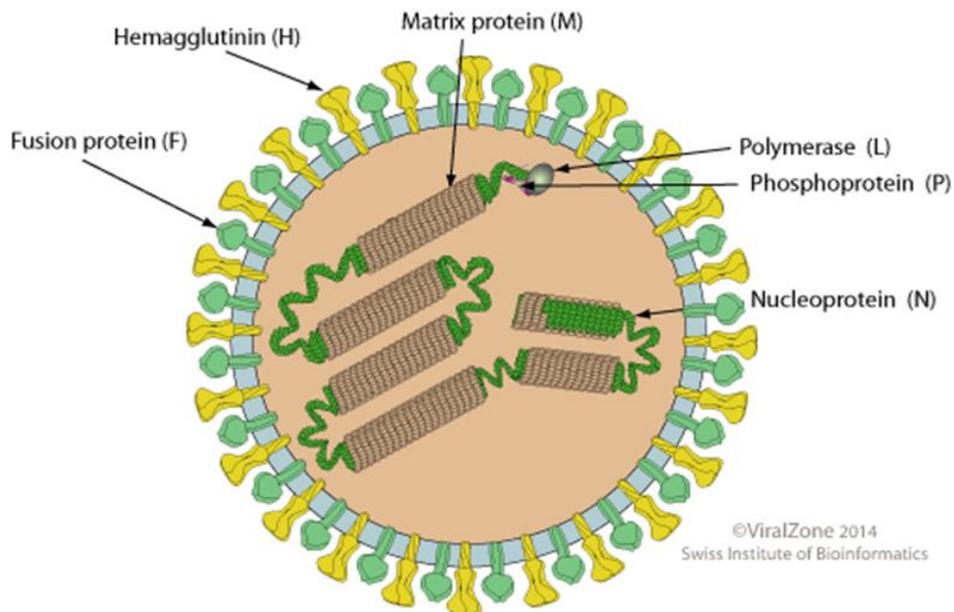
2.2 Etiologia

O CDV (*Canine Distemper Vírus*) é um vírus envelopado e pleomórfico, contendo informação genética em fita de RNA de sentido negativo (Figura 1). O nucleocapsídeo viral possui simetria helicoidal e possui de 13 a 18 nm de diâmetro por 600 a 1.000 nm de extensão (ARNS et al., 2012). A etiologia foi proposta pelo veterinário francês Henri Carré, em 1905, sendo denominada doença de carré (BLANCOU, 2004).

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).

O genoma viral codifica seis proteínas principais, sendo a hemaglutinina (H) e de fusão (F) sendo as mais importantes, por serem responsáveis pela fixação do vírus na célula e no processo de fusão respectivamente (SAWATSKY; VON MESSLING, 2006).

Figura 1: Representação esquemática da estrutura de um *Morbillivirus*.



Fonte: (LOPES, 2014)

2.2.1 Proteína Hemaglutinina

A proteína H é responsável pela ligação dos viriões a célula hospedeira e pelo tropismo celular, na indução da resposta imune específica do hospedeiro. Apresenta atividade de hemaglutinação, que se utiliza na identificação de isolados e diagnósticos (ARNS et al., 2012). A função primária da proteína H, é a ligação aos receptores celulares do hospedeiro (VON MESSLING et al., 2005).

2.2.2 Proteína de fusão (F)

A proteína F interage com a H para intervir na fixação e fusão do envelope viral com a membrana celular, permitindo a inserção do nucleocapsídeo na célula hospedeira (LAMB; PARKS, 2013).

2.2.3 Proteína de matriz (M)

A proteína M é a mais dos virions, ocupando o espaço entre o nucleocapsídeo e o envelope, servindo como ponto de ancoragem para as glicoproteínas de superfície H e F (LAMB; PARKS, 2013).

2.2.4 Nucleoproteína (N)

A nucleoproteína tem aproximadamente 80% da sua sequência conservada, está ligada ao genoma viral e juntamente com as proteínas P e L formam o nucleocapsídeo que é responsável pela proteção do genoma viral (ARNS et al., 2012).

2.2.5 Grande (Large) Polimerase (L)

A proteína L é encontrada em quantidades muito baixas nas células infectadas, ligadas ao nucleocapsídeo e aos virions (aproximadamente 50 cópias por virion) e representa a subunidade catalítica da RNA polimerase dependente de RNA (RdRP). A proteína L só exerce sua função a partir da formação de um complexo com a proteína P, fator importante para a atividade da polimerização a partir de moldes de RNA conjugados pela proteína N (ARNS et al., 2012).

2.2.6 Fosfoproteína (P)

A proteína P é altamente fosforilada e participa na formação do complexo polimerase para a síntese de RNA (ARNS et al., 2012).

Um mecanismo conhecido como edição de RNA, permite que várias proteínas diferentes sejam geradas a partir do gene P, e no caso dos Morbillivirus, são produzidas as proteínas V e C (LAMB; PARKS, 2013).

Toda a atividade catalítica da transcriptase viral é atribuída à proteína L, porém, ela somente é capaz de se ligar ao complexo ribonucleoproteína (RNA:N) na presença da proteína P, que por sua vez realiza a transcrição, replicação e a eficiência com que a nucleoproteína se insere e monta os nucleocapsídeos. Juntamente com a nucleoproteína, a proteína P forma agregados citoplasmáticos conhecidos como corpúsculos de inclusão nas células infectadas (ARNS et al., 2012).

2.2.7 Proteína V e C

As proteínas não estruturais V e C, não são tão importantes à replicação viral, mas participam na sobrevivência do vírus *in vitro* e são decisórias na sua virulência (LAMB; PARKS, 2013). Também possuem participação na evasão da resposta imune inata pelo vírus. A regulação da síntese do RNA genômico viral também é exercida pela proteína C (ARNS et al., 2012).

2.3 Fisiopatologia

O animal inala partículas virais que chegam ao epitélio do trato respiratório superior em 24h, multiplicando-se nos macrófagos teciduais, iniciando uma infecção nas tonsilas palatinas e nos linfonodos bronquiais. A partir do segundo dia após a infecção através de macrófagos e linfócitos infectados, o vírus se espalha para outros órgãos linfoides, como baço, timo linfonodos retrofaringeos medula óssea. A partir do quarto dia o vírus se replica na lâmina própria do estômago, intestino delgado, linfonodos mesentéricos e células de Kupffer's no fígado. Quando acontece a disseminação e proliferação do vírus nos órgãos linfoides, inicia o aumento da temperatura corporal e leucopenia (ETTINGER; FELDMAN, 1997).

Do sexto ao nono dia após a infecção, o vírus espalha do tecido linfoide ao epitelial (APPEL, 1969; SHELL, 1999). Neste período o animal pode desenvolver anticorpos contra o vírus, mudando o andamento da infecção (SHELL, 1990). Não adquirindo anticorpos estes animais terão suas células epiteliais infectadas, continuando a replicação viral, aparecendo os sinais clínicos entre o décimo quarto ao décimo nono dia (APPELL, 1969). Neste momento começam a apresentar uma rinite muco-purulenta. Depressão, anorexia, vômitos e diarreia, podendo ser muito sanguinolenta (GREENE; APPELL, 1990).

Segundo Chrisman (1985), a difusão do vírus para o SNC ocorre entre oitavo e nono dia após a infecção. Há variações na severidade e localização das lesões no Sistema Nervoso Central. A infecção pode ser fatal em poucos dias, evoluir durante semanas e torna-se letal, ou estabilizar-se sem comprometimento maior (Figura 2).

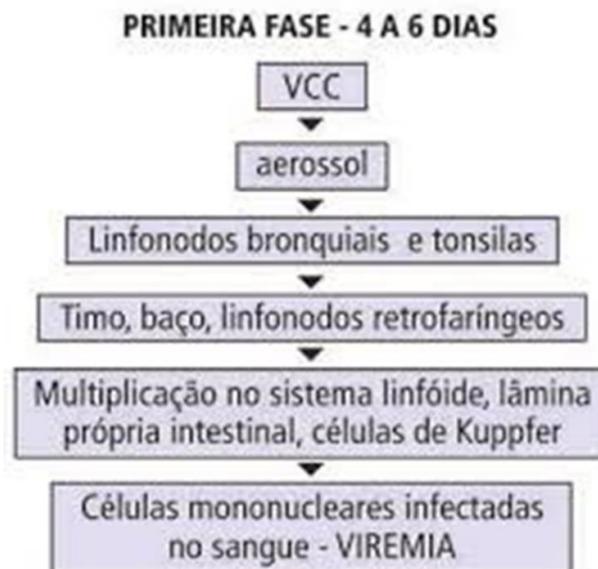
Estudos mostram que o endotélio vascular seja a primeira parte do SNC a ser afetado por contato com vírus livre no plasma, ou complexos formados por vírus-IgG-plaquetas (KRAKOWKA et al., 1985). Infectando o endotélio VCC, passa para os prolongamentos astrocitários, passando pelos astrócitos, atingindo assim os neurônios. Causando degeneração (HIGGINS et al., 1982). Ocorre a infecção das células gliais,

ocorrendo a desmielinização, ocorrendo uma intensa replicação viral na substancia branca. Ocorre a inflamação devido ao SNC querer eliminar o vírus do organismo (VANDEVELDE et al., 1985).

A alta taxa de mortalidade nos cães com cinomose é leucoencefalite desmielinizante, sendo o estágio neurológico da patologia, onde ocorre a inflamação SNC, desmielinização e lesão axonal (LEMPPE; SPITZBARTH; PUFF, 2014) (Figura 3).

Figura 2: Fase inicial da patogenia da cinomose canina.

PATOGENIA DA CINOMOSE CANINA



Fonte: (TORRES; RIBEIRO, 2012)

Figura 3: Fase de disseminação da cinomose canina.



Fonte: (TORRES; RIBEIRO, 2012).

2.4 Sintomatologia

O período de incubação e o surgimento dos sinais clínicos da cinomose aguda é de quatorze a dezoito dias. Sendo seu primeiro sinal da infecção é a tosse seca, logo se tornando produtiva (GREENE; APEEL, 1990). Pode se auscultar crepitações no pulmão e a pneumonia bacteriana (HAWKINGS, 1997).

Após a infecção ocorre febre transitória, voltando ao normal após sete a quatorze dias, mas havendo um retorno juntamente com conjuntivite serosa e enterite parecida com parvovirus canino (CASTELLANO, 1993). A desidratação e perda de sangue, com debilitação em cães com cinomose aguda (NELSON; COUTO, 2010; SHERDING, 2008).

Os meios utilizados pelas mioclonias não se é bem compreendido, em estudos experimentais pode se dizer que seja lesões focais na substância cinzenta da medula espinhal, causando lesões no neurônio motor inferior, ou também lesões nos núcleos basais podendo iniciar as mioclonias como marca-passo na medula espinhal ou tronco encefálico, mantendo o movimento muscular involuntário (CHRISMAN, 1985; SUMMERS et al., 1995).

Os sinais mais visíveis são corrimento naso-ocular seroso a mucopurulento (Figuras de 4 a 8) causado por queratoconjuntivite seca e rinite, tosse seca ou produtiva, dispnéia, estertores pulmonares (inicialmente, ocorre uma pneumonia intersticial como consequência do efeito viral e, posteriormente, manifesta-se uma broncopneumonia derivada de uma infecção bacteriana secundária), desidratação, vômito, diarreia eventualmente sanguinolenta, perda de peso, lesões oftalmológicas (uveíte, neurite óptica e necrose da retina) e cegueira ((HOSKINS, 2004; QUINN et al., 2005; NELSON; COUTO, 2006).

Figura 4: Cão com secreção nasal mucopurulenta causada pela esgana



Fonte: (NASCIMENTO, 2009)

Figura 5: Cão infectado pelo CDV apresentando secreção nasal e hiperqueratose em plano nasal



Fonte: (SANTOS, 2018)

Figura 6: Cão com cinomose apresentando dermatopatias



Fonte: (NASCIMENTO, 2009)

Figura 7: hiperqueratose em conxins cão com cinomose



Fonte: (NASCIMENTO, 2009)

Figura 8: Cão com hiperplasia na gengiva



Fonte: (NASCIMENTO, 2009)

2.5 Vias transmissão

A via de transmissão vem através de aerossóis e gotículas de excreções e secreções dos animais infectados (HEADLEY et al., 2012). Em abrigos, canis (Figura 9), lojas pet shop, clínicas veterinárias, são locais propícios à disseminação do vírus devido ao estresse e acúmulo populacional de animais (BIRCHARD; SHERDING, 2003). Cadelas prenhes, infectadas podem transmitir via transplacentaria, gerando abortos, fetos natimortos, ou nascimento de animais fracos ou imunossuprimidos (ARNS et al., 2012).

As falhas vacinais, erros na conservação das vacinas, redução resposta imune em cães vacinados com temperatura acima de 39,8°C (GREENE; APPEL, 2006; DAY et al., 2016).

Figura 9: Canil com aglomeração de cães.



Fonte: (PRAZERES, 2015)

2.6 Diagnóstico

Feito com base na anamnese, exame físico e laboratoriais (SANTOS et al., 2016). Nos exames laboratoriais, podem ser utilizadas amostras biológicas de sangue total, urina, leucócitos, fezes, saliva, secreção respiratória (GEBARA et al., 2004; AMUDE et al., 2007; NEGRÃO et al., 2007). Linfopenia, anemia, trombocitopenia, são achados mais comum no hemograma de cães com cinomose (FENNER et al, 1993).

Os testes rápidos (Figuras de 10 a 13) como Alere Cinomose Ag Test Kit, que é um imunoenensaio cromatográfico para a detecção qualitativa do antígeno (Ag) do vírus da cinomose em cães de várias idades, machos e fêmeas, com ou sem raça definida.

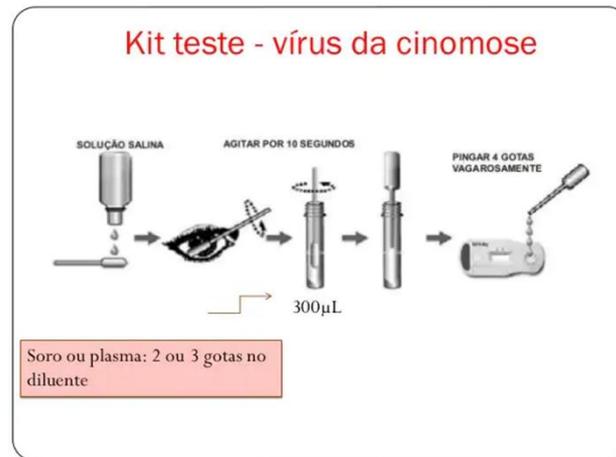
Exames de Imunofluorescência devem ter preferência pelo baseado em antígeno (AG) do que ligados a anticorpos (AC), pois podem dar falso positivo em animais que já foram vacinados e falsos negativos quando feito no início da doença, tendo grande eficiência quando feito em fase crônica, onde já atingiu a fase neuronal (SILVA et al., 2007)

Figura 10: Teste rápido cinomose.



Fonte: (RANNO, 2018)

Figura 11: Teste rápido cinomose



Fonte: (CALADO, 2016)

Figura 12: Resultado positivo, teste rápido cinomose.



Fonte: (CALADO, 2016)

Figura 13: Resultado negativo, teste rápido cinomose.



Fonte: (CALADO, 2016)

2.7 Tratamento

Não existe um protocolo terapêutico específico antiviral contra a cinomose, faz o tratamento de suporte (ETTINGER; FELDMAN 1997). Pode ser utilizado o soro hiperimune, que pode levar a soroneutralização do vírus livre, terapia com antimicrobianos de amplo espectro, em casos de infecções bacterianas secundárias, expectorantes, broncodilatadores, antipiréticos, antieméticos, fluidoterapia, anticonvulsivantes quando há caso de convulsão, e corticosteroides para lesões neuronais e edema cerebral. Suplementação vitamínica e mineral, protetores estomacais e boa alimentação (SORRELS; SAPOLSKY, 2007; CRIVELLENTI; CRIVELLENTI, 2012). E alguns antivirais como ribavirina associada ao dimetil sulfóxido (DMSO) tendo função anti-inflamatória, mas com grandes efeitos colaterais (BRAYTON, 1986; BRITO et al., 2010; MANGIA et al., 2012, 2014).

2.8 Profilaxia

Recomenda-se a utilização de vacinas atenuadas e polivalentes, sendo que estas possuem agentes que previnam outras doenças como leptospirose, parvovirose e hepatite infecciosa canina. Deve-se observar o sistema imunológico do animal, sendo que a vacinação pode não ter resultado caso existam anticorpos maternos presentes, ou protocolo vacinal não tenha sido adequado (GUTIÉRREZ et al., 2015).

Segundo Angélico e Pereira (2012), a vacinação deve ocorrer na oitava semana de vida, sendo necessário o reforço com mais duas doses após 3 a 4 semanas após a primeira aplicação.

2.9 Células- tronco

Atualmente um tratamento pós cinomose que tem dado resultados positivos é a terapia celular (TC) de regeneração de órgãos. O tratamento com células- tronco (CT) é uma forma de restaurar o funcionamento de tecidos e órgãos, protegendo a integridade celular ou reposição de células danificadas por células saudáveis regenerando e reparando o tecido (BRUNO; 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; SOUZA, 2019).

Um dos pontos positivos do uso CTH autólogas como terapia é a menor chance de rejeição imunológica, sem precisar de estoque celular em banco de tecidos, pois são inesgotáveis (BRUNO; SOUZA, 2019).

As células-tronco são definidas, tendo grande capacidade de autorenovação e produção de pelo menos um tipo celular altamente especializado (BRUNO; SOUZA, 2019).

Bruno e Souza (2019) classificam, segundo sua potencialidade em onipotente, oligopotente, totipotente, pluripotentes e multipotentes, ou ainda, quanto a sua natureza, em células embrionárias e adultas. As totipotentes podem gerar qualquer tipo celular, conseguem se diferenciar nas células do folheto extra embrionário que dão sustentação ao embrião no útero materno, incluindo a placenta e os anexos embrionários. Estas células são isoladas do zigoto e dos embriões até à fase de mórula, o que corresponde a 3 ou 4 dias de vida (GAGE, 2000; FRITSCH et al., 2007; ROCHA et al., 2012; DIAS et al., 2014).

As células pluripotentes, parecidas com totipotentes, porém mais especializada, pode se diferenciar em todas as células dos 3 folhetos germinativos (ectoderme, mesoderme e endoderme), exceto na placenta e nos anexos embrionários, sem ser um organismo completo (ROCHA et al., 2012; DIAS et al., 2014).

As células multipotentes podem ser retiradas do indivíduo adulto, como tecido fetal, células germinativas embrionárias, cordão umbilical ou mesmo de tecidos adultos diferenciados, são mais limitadas que as pluripotentes. Elas conseguem diferenciar-se em vários tipos celulares, porém, apenas de um mesmo folheto embrionário. Um exemplo são as células estaminais mesenquimatosas da medula óssea e derivadas do tecido adiposo (CAMPAGNOLI et al., 2001; GRINFELD; GOMES, 2004; DA FRANCA et al., 2011; DIAS et al., 2014).

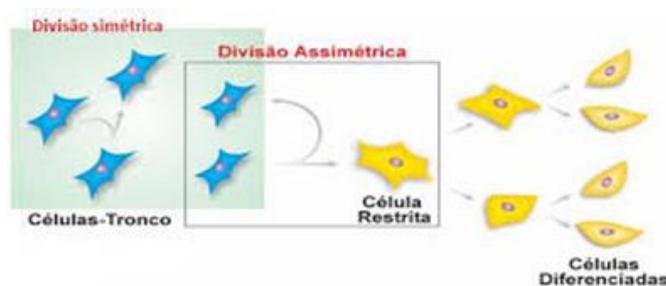
As células oligopotentes são menos potentes, sendo capazes de formar células de um mesmo folheto germinativo e diferenciarem-se em poucos tecidos, como tecido intestinal ou das células precursoras ou progenitoras das células sanguíneas da linhagem mieloide (DEL CARLO, 2005; ZAGO, 2006; DIAS et al., 2014; REGENERA STEM CELLS, 2015).

As células unipotentes diferenciam-se, somente, num único tipo celular maduro de um mesmo folheto embrionário é o caso das células espermatogénicas, que são

responsáveis pela produção contínua de espermatozoides (MCLAREN, 2000; FRITSCH et al., 2007; ROCHA et al., 2012; DIAS et al., 2014).

As CT podem ter divisão simétrica e assimétrica (Figura 14), conforme o estágio de multiplicação ou sua especialização. Auto renovação simétrica, quando a célula mãe gera duas CT e uma célula semi- diferenciada; auto renovação assimétrica, quando a célula mãe gera uma CT e uma célula semi diferenciada ou diferenciação simétrica, quando a célula mãe da origem a duas células semi diferenciadas (BRUNO; SOUZA, 2019).

Figura 14: Esquema representativo da divisão simétrica e assimétrica das células-tronco.



Fonte: (FONTES, 2017)

Supõe-se que as CT tem função de liberação de moléculas prevenindo apoptose, recrutamento de CT adjacentes do próprio tecido, interferência na inflamação provocada pelo dano tecidual, preparando a resposta do sistema imune, e aparecimento de moléculas ou enzimas que ajudam no defeito metabólico (BRUNO; SOUZA, 2019).

A recuperação do tecido lesionado depende da diferenciação de células progenitoras ou CT do próprio organismo. Mesmo a CT poderem se diferenciar em células do tecido, elas produzem fatores de crescimento e muitas quimiocinas que ajudam a reparar o tecido (BRUNO; SOUZA, 2019).

Há estudos que dizem que estas células podem se diferenciar em tipo celular do sistema nervoso como: neurônios, oligodendrócitos e astrócitos, sendo eleitas para uso na TC em doenças crônicas, progressivas ou degenerativas relacionadas ao SNC e periférico (BRUNO; SOUZA, 2019).

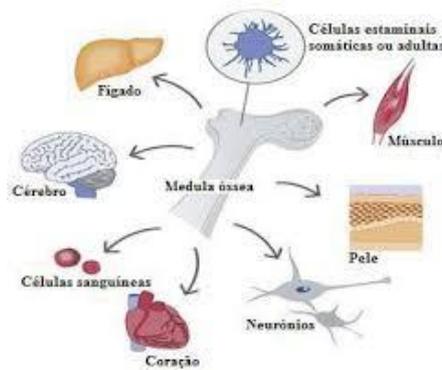
2.9.1 Células-tronco mesenquimais (adultas) (CTM)

As células-tronco adultas são encontradas não só no embrião, mas em vários outros órgãos e tecidos no indivíduo adulto. Participam da homeostase do tecido, gerando novas células, devido sua renovação fisiológica ou por resposta a uma injúria (BJORNSON et al., 1999; CLARKE et al., 2000) A primeira célula–tronco adulta identificada devido sua pluripotência foi a hematopoiética, que se deriva de uma célula mãe, totipotente, tendo grande capacidade de renovação (LIANG; BICKENBACH, 2002; SILVEIRA, 2000),

As CTM são conhecidas como células do estroma medular ou unidades formadoras de colônias fibroblásticas (Figura 15), não hematopoiéticas multipotentes que se juntam com placas de cultura podendo se regenerar em tecido ósseo, tendão, cartilagem, tecido adiposo e conjuntivo (BRODOWSKI et al., 2009). Esta 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 (BRUNO; SOUZA, 2019).

Células-tronco mesenquimais (CTMs) (Figura 15) pode gerar qualquer tipo celular necessário para reparar qualquer tipo celular, como osteoblastos, condroblastos, hepatócitos, neurônios, células epitelial, renais, cardíacas e entre várias outras (CAPLAN, 2009).

Figura 15: Esquema de obtenção de CTM a partir de medula óssea e a capacidade de diferenciação em diversos tecidos.



Fonte: (MARQUES, 2016).

Bruno e Souza (2019) relata que as CTM podem ser extraídas da medula óssea e espinhal, vasos sanguíneos, cordão umbilical, músculos esqueléticos, tecido adiposo, entre outras. Um ponto positivo das CTM recrutadas por tecidos lesados acontece a um mecanismo parácrino (BRUNO; SOUZA, 2019). Segundo Bruno e Souza (2019), 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.

Devido à ligação com o tecido ao serem implantadas, as CTM agem fazendo a liberação de citocinas anti-inflamatória e a reparação tecidual (BRUNO; SOUZA, 2019). Bruno e Souza (2019) relatam que as CTM adultas possuem capacidade de migrar para áreas lesadas, como por exemplo, áreas de hipóxia, apoptóticas ou inflamadas. Podem ser usadas em várias aplicações terapêuticas podendo participar da regeneração tecidual, corrigir distúrbios hereditários e reduzir a inflamação crônica (BRUNO; SOUZA, 2019).

O sucesso da terapia depende de fatores, como a administração respeitando as variáveis que implicará na migração (KARP; LENG, 2009), dentre elas a afecção, o local da lesão, influência da injúria e o estado do paciente (RYAN et al., 2005).

A teoria da regeneração dos tecidos após aplicação de CT é a liberação de citocinas e fatores tróficos no local lesionado (BRUNO; SOUZA, 2019). As CTMs possuem moléculas bioativas, como citocinas e receptores de crescimento, ocasionando uma comunicação com as demais células (HUSS, 2000; BOBIS et al., 2006).

A via de administração é a intravenosa (IV) (LI et al., 2017) através da veia cefálica, por ser melhor local de acesso e menos invasivo e de fácil difusão pelo organismo (QUIMBY et al., 2016).

Pesquisas falam que a via IV diminui os riscos de insuficiência renal aguda isquêmica, através do efeito parácrino (sinalização biológica de citocinas, interleucinas e fatores de crescimento ou anti-apoptóticos (CHEN et al., 2011). Outra via de administração no local do injuriador, é um procedimento cirúrgico, invasivo (BLACK et al., 2008). Para obter células-tronco mesenquimais, o tecido adiposo é extraído e isolado (FADEL et al., 2011).

2.9.2 Células -tronco embrionárias

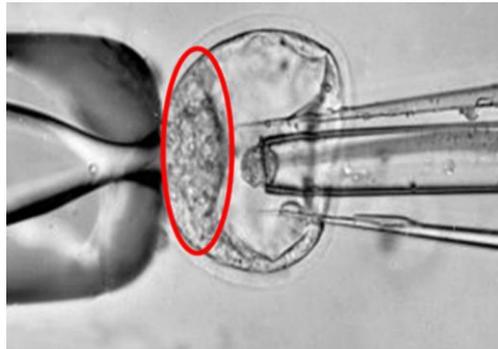
As células tronco embrionárias quando retiradas de seu local embrionário normal, e cultivadas em formas apropriadas, continuam se renovando indefinidamente. Para formar o ectoderma primitivo durante a gastrulação formam-se três folhetos embrionários (ectoderma, mesoderma e endoderma) no embrião de estágio blastocisto (WEISSMAN, 2000; ODORICO; KAUFMAN; THOMSON, 2001).

Após o óvulo fecundado, se torna zigoto, onde durante seu trajeto pelo corpo uterino o zigoto sofre vários processos de mitose, aumentando suas células, passando para blastômeros (Figura 16). Os blastômeros continuam se dividindo formando uma camada compacta chamada mórula. Neste momento os líquidos da cavidade uterina entram nos espaços entre os blastômeros formando uma massa celular externa (trofoblasto) e a massa

celular interna (embrioblasto), junto com o líquido, eles se fundem e formam uma cavidade chamada blastocele, sendo o conceito agora chamado de blastocisto (ROCHA; MAIA; GUASTALI; VOLPATO; ALVARENGA, 2012)

São células tronco pluripotentes, com grande plasticidade, tendo capacidade ilimitada de proliferação indiferenciada *in vitro*, ainda formando os três folhetos embrionários mesmo em um longo período de cultura (THOMSON et al., 1998).

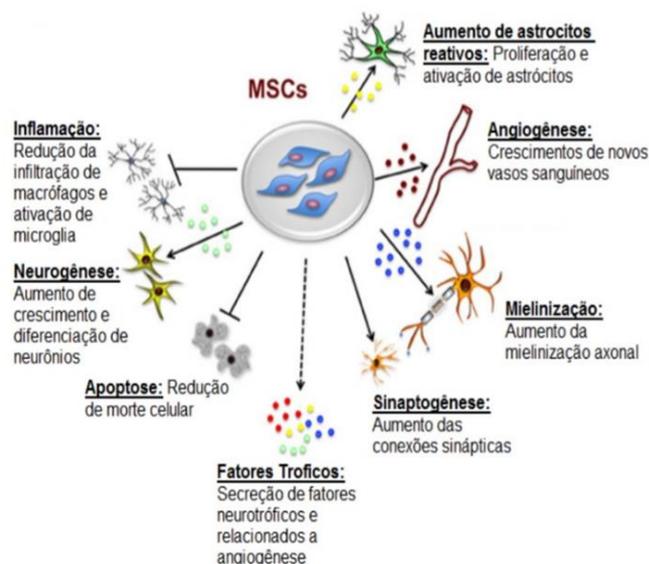
Figura 16: Encontrada no embrião no estágio blastocisto (4 a 5 dias após fecundação). Em vermelho massa celular interna (CTE).



Fonte: (PORFIRIO; VITOR; SOARES; PIRES, 2017)

As células mesenquimais reduzem a inflamação, aumentam as sinapses e diminui a apoptose na lesão (Figura 17). Contribui para angiogênese e mielinização dos axônios (MELENDEZ et al., 2013).

Figura 17: Ação células-tronco SNC.



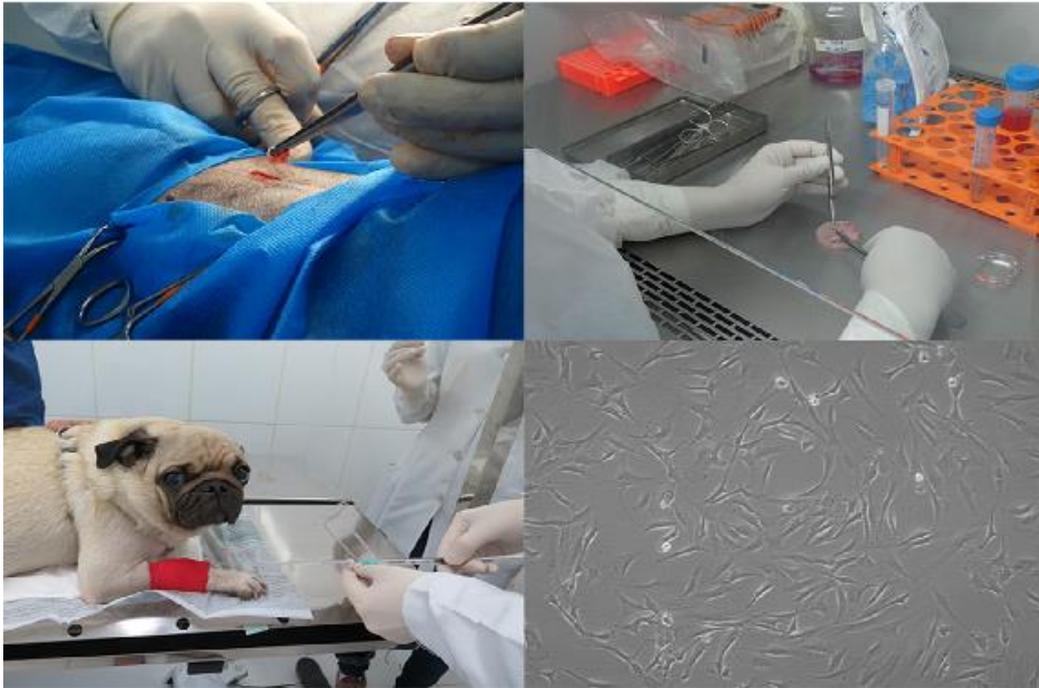
Fonte: (ALMEIDA, 2017)

2.9.3 Protocolo de Terapia Celular

As CTMS são isoladas e cultivadas do tecido adiposo de um cão doador saudável. O animal é anestesiado, sendo feita uma incisão na região lombar aproximadamente, 20 a 25 gramas de tecido adiposo foi retirado da base da cauda com auxílio de material cirúrgico. O tecido adiposo é lavado em solução salina para remover resíduos celulares e sanguíneos, cortado em pequenos pedaços, foi exposto à hialuronidase, para passar por digestão enzimática. Após as células foram submetidas a um processo de filtração para iniciar uma separação das CTMs.

As células são colocadas em frascos de cultura com meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), e foram incubadas a 37,5 ° C e 5% de CO₂. Após 24 h, o meio descartado com as células não aderentes e meio de cultura fresco foi adicionado às garrafas. O meio é trocado uma vez a cada 3 dias, até as células atingirem 80% de confluência, quando a tripsinização é realizada para retirar as células das garrafas, contar na câmara de Neubauer e envasá-las em palhetas (1 milhão de células / palheta) para congelamento com DMSO e SFB em nitrogênio líquido (De ROSA et al., 2009; CUI; PU, 2010). A aplicação de CTMs é realizada endovenosa (Figura 18).

Figura 18: Procedimento retirada CTMs.



Fonte: (UFSC, 2019)

É feito devido segurança e localidade anatômica, acesso de eleição é através das veias cefálica ou safena, e possibilidade de realizar mais de uma aplicação com efeitos colaterais mínimos, por ser um acesso pouco traumático e não invasivo (SANTOS et al., 2018). Foi feita na concentração de 2×10^6 CTMs/kg diluídas em 50ml de solução fisiológica ringer com lactado e aplicada em velocidade de aproximadamente 40 minutos através da veia cefálica.

O resultado vai depender de cada paciente, relacionados à idade do paciente, ao estado imunológico, à cepa do vírus e ao tempo de persistência deste no organismo (Figuras de 20 a 24). 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).

Quando as células-tronco embrionárias são injetadas em animais, sem técnica que envolve um marcador fluorescente, as células podem se dividir descontroladamente, formando teratomas (PEREIRA, 2008; KRIKS et al., 2011) (Figura 19). Na Tabela 1 estão mostrados o estudo de caso de 11 cães com cinomose e 5 cães doadores na Terapia com células – tronco.

Figura 19: Teratoma, devido ao crescimento descontrolado das células- tronco no organismo.





Fonte: (CHAVES; FERANTI; COPAT; RIPPLINGER; FRANÇA; KOMMERS; FIGHERA; MAZANTI, 2018)

Tabela 1: Estudo de caso de 11 cães com cinomose, 5 cães doadores, na Terapia com células – tronco.

	Aguda	Crônica	Resultado
1	Paraplegia e incoordenação membros pélvicos, pneumonia, conjuntivite, convulsões.		Eutanásia
2	Paraplegia e incoordenação membros pélvicos, pneumonia, conjuntivite, convulsões		Melhora
3	Conjuntivite, pneumonia, convulsões		Eutanásia
4	Gastroenterite, conjuntivite, pneumonia, convulsão e desidratação		Melhora
5	Paraplegia, déficit de coordenação, vocalização constante		Melhora
6	Paraplegia e incoordenação		Melhora
7	Mioclonias e anemia ferropriva		Melhora
8		Paraplegia e incoordenação motora de membros pélvicos	Melhora
9		Paraplegia e incoordenação motora de membros pélvicos	Melhora aparente
10		Déficit de coordenação, ablepsia, andar em círculos	Melhora

11		Mioclônias	Melhora
----	--	------------	---------

Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIM, 2010)

Figura 20: Animal com seqüela recente de cinomose canina, apresentando paraplegia e incoordenação de membros pélvicos, com visível atrofia muscular.



Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIN, 2010)

Figura 21. Animal com duas semanas após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, no entanto, o animal apresentava ainda déficit proprioceptivo.



Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIN, 2010)

Figura 22. Animal com duas semanas após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, no entanto, o animal apresentava ainda déficit proprioceptivo.



Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIN, 2010)

Figura 23. Animal com seqüela recente de cinomose canina, apresentando paraplegia e incoordenação de membros pélvicos, com escoriações por decúbito



Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIN, 2010)

Figura 24. Animal com 43 dias após o transplante de células mononucleares. Nota-se visível recuperação, com recuperação completa da musculatura. O animal recuperou completamente a capacidade proprioceptiva.



Fonte: (BRITO; CORAT; SANTOS; GILIOLI; PASSOS; LANCELLOTTI; FERREIRA; MIN, 2010)

Um estudo realizado por Monteiro (2017), com aplicação de CTM via epidural, tinha um número de 30 animais com sequelas neurológicas relacionados a cinomose. Os animais deste estudo eram divididos de acordo com o grau da lesão (Grau I a grau V), cujo sinais clínicos foram paresia, ataxia, sinais vestibulares e cerebelares, mioclonias e sinais de convulsão. Os resultados demonstraram que a TC permitiu reduzir o grau da lesão em 43,3% dos animais tratados, porém, dos animais que permaneceram com paralisia e/ou tetraparalisia, estavam dentro do grupo classificado com o Grau V (sem dor profunda e não conseguindo levantar-se).

No estudo realizado por Brito et al. (2010) com onze cães com sequelas neurológicas, sete apresentavam manifestações clínicas recentes, dentre estes dois manifestavam paraplegia e incoordenação de membros pélvicos, com diminuição ou ausência de resposta proprioceptiva. Quatro animais apresentavam sinais clínicos crônicos, entre 3 meses até 4 anos, destes, dois animais apresentavam paraplegia e incoordenação motora em membros pélvicos e um animal com déficit de coordenação, ablepsia e andar em círculos e apenas um animal apresentava mioclonias. Dos sete animais com sequelas agudas ou recentes, cinco animais tiveram remissão completa dos sinais clínicos e dois animais melhora parcial e momentânea. Dos animais com sinais crônicos, três animais apresentaram melhora visível na primeira semana após o transplante, porém, dois destes animais apresentaram novamente os mesmos sinais clínicos vistos antes do transplante. O animal que apresentava ablepsia não recuperou a visão, porém teve uma melhora dos outros sinais.

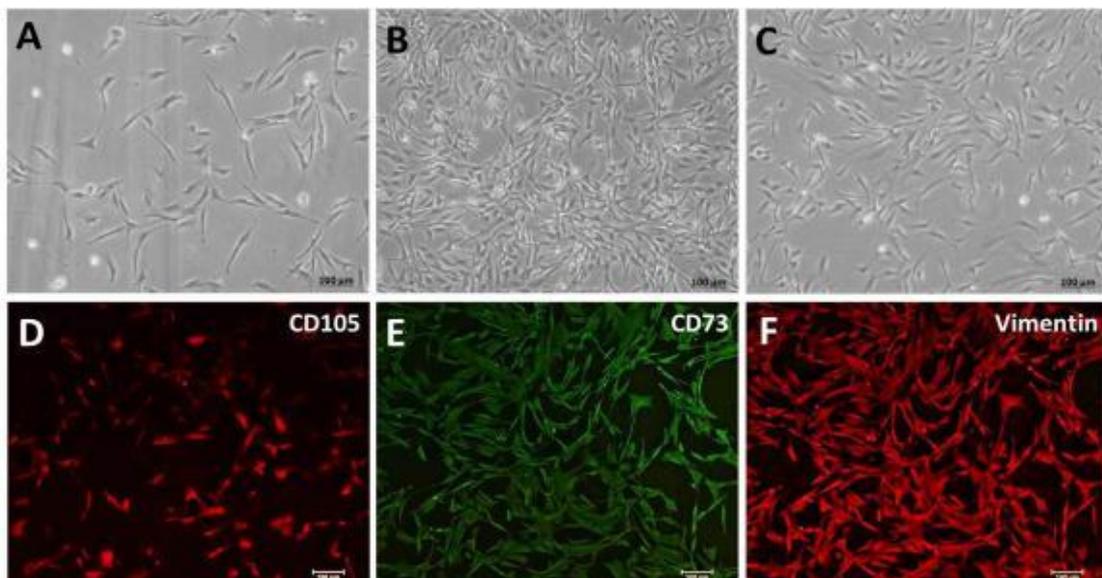
Em outro estudo foram selecionados no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário “Prof. Mário Dias Teixeira” na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), quatro cães (C1, C2, C3, C4), com sinais clínicos de leucoencefalite desmielinizante, sendo confirmado o diagnóstico através de exames laboratoriais (PINHEIRO et al, 2019). Foram tratadas as sintomatologias, porém permaneceu sinais

nerológicos. Foi realizado um novo exame, o de PCR (Reação de cadeia em polimerase), dando negativo para o vírus da cinomose.

Os cães foram submetidos a exames neurológicos, sendo avaliação estado mental, locomoção, nervos cranianos, reações à postura, reflexos espinhais, percepção sensorial e tônus muscular. Para análises foi feita uma escala de 0 (ausência), 1 (diminuição), 2 (normalidade) e 3 (aumento do sinal avaliado). Foi criado por (SANTOS, 2013) uma escala onde, (I) deambulação funcional; (II) animal com incoordenação motora - anda com incoordenação; (III) animal tetraparético – permanece parado, mas não se levanta; (IV) animal tetraparético - não fica parado ou em pé; e (V) animal tetraplégico - sem dor profunda e com sinais de grau IV. A outra escala era para mioclonia, com os seguintes graus: (I) ausente; (II) apenas nos momentos de agitação; (III) presente - leve; (IV) presente - moderado; e (V) presente - intenso.

As CTMs (Figura 25) foram retiradas do tecido adiposo do flanco de cada paciente, por digestão enzimática. Foi realizada três aplicações separadas de 1×10^7 células na passagem P3 ou P4, sendo injetadas via artéria femoral a cada 30 dias e exames neurológicos antes de cada aplicação, antes da aplicação todos animais apresentavam sinais neurológicos (PINHEIRO et al, 2019).

Figura 25: Fotomicrografia da cultura de células-tronco mesenquimais canina (MSC) após dois dias de isolamento, após seis dias na confluência celular e na passagem P1 após descongelamento.



Fonte: (PINHEIRO et al, 2019)

Após o isolamento, as CTMs, foram mantidas em cultura a 37° C, 5% de CO₂ em meio de cultivo (meio de Eagle modificado por Dulbecco, com 20% de soro fetal bovino), sendo trocado a cada 2 a 3 dias, sendo criopreservadas nas passagens P0 e P1. Após descongelas ficaram em cultura por 7 dias para fazer a expansão de 1×10^7 , sendo que sua confluência foi 80% após 48 h, mantendo sua morfologia fibroblástica (PINHEIRO et al, 2019).

3 Considerações finais

Com o avanço das pesquisas, tem se obtido mais formas de tratamento para pacientes que possuem sequelas da doença cinomose, e as células-troncos vem com uma nova esperança em salvar vidas. As CTM são capacitadas em se diferenciar e autorenovar, alta taxa de proliferação em cultura, potencial de diferenciação em inúmeros tecidos, como o sistema nervoso. Como as CTM são células adultas encontradas em várias partes do organismo pode fazer regenerar grande parte de tecidos e órgãos. Com esta nova tecnologia as clínicas veterinárias podem oferecer um melhor tratamento aos seus pacientes, uma melhor forma de vida a aqueles que ficaram com sequelas neurológicas, como na cinomose. Em alguns animais o tratamento CTMs traz melhora parcial de sintomatologias neurológicas, como alívio da dor, em outros, a melhora é por completo quanto aos sinais clínicos, assim, é um tratamento promissor na Medicina Veterinária.

REFERÊNCIAS

AMUDE, A. M. NEGRÃO, F. J; GEBARA, C. M. S. R. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

ANGÉLICO, S. M. R; PEREIRA, C. A. D. Cinomose canina: aspectos relacionados ao diagnóstico, tratamento e vacinação. **PUBVET**, v. 13, n.2, a 263, p. 1-8, 2019.

APEEL, M. J. G; SHELL, G. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

ALMEIDA, G. G. C. G. Análise comparativa da expressão de subunidades de Integrina em células-tronco mesenquimais cultivadas em matriz de colágeno e no modelo de cultivo convencional. **Universidade Estadual do Norte Fluminense**, 2017.

ARNS, C. W. Análise filogenética do gene de fusão de cepas brasileiras do vírus da cinomose canina em cães. **Universidade Estadual Londrina-PR**, 2017.

ARNS, C. W. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017

ARENDDT, H. **O Conceito de amor em Santo Agostinho**. Lisboa. Instituto Piaget. 1997.

BAJADA, S; GADE, F. H; ROCHA, A. S; DIAS, R. P. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa .2016.

BIRCHARD, S. J; SHERDING, R. G. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

BLANCOU, J. Análise filogenética do gene de fusão de cepas brasileiras do vírus da cinomose canina em cães. **Universidade Estadual do Norte Fluminense**, Londrina –PR, 2017.

BJORSON, C. R. R; CLARKE, D. L; LIANG, L; BICKENBACH, J. R; SILVEIRA, P. A. Células-tronco: uma breve revisão. **Revista Científica de Biologia**, 2003.

BRAYTON, C. F; BRITO, H. F. V; MANGIA, S. H. Cinomose canina: Revisão de Literatura, **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

BRITO, H. F. V; CORAT, M. A. F; SANTOS, M. R; GILIOLI, R; PASSOS, L. A. C; LANCELLOTTI, M; FERREIRA, F; MIM, L. I. Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante halogênico de células mononucleares de medula óssea. **MEDVEP**, v. 8, n. 24, p.27-29, jan, 2010.

BRUNO, B; SOUZA, L. C. G. et al. Células tronco no tratamento de animais com sequelas neurológicas ocasionada pela cinomose. **UNICEPLAC**, Gama- DF. 2019.

CUBAS, Z. S; JERICÓ, M. M. Cinomose canina: aspectos relacionados ao diagnóstico, tratamento e vacinação. **PUBVET**, v. 13, n.2, a 263, p. 1-8, fev. 2019.

CAPLAN, A. L. Células-tronco mesenquimais: características, cultivo e uso na Medicina Veterinária. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 2014.

CALADO, A. Imunocromatografia e Dot- ELISA. **UNESP**, 2016.

CAMPAGNOLI, C; GRINFELD, S; GOMES, R. G. C; DA FRANCA, A. G; DIAS, R. P. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa. 2016.

CARRÉ, H. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **UFERSA**, Belém- PA, 2009.

CATROXO, M. H. B. Cinomose canina: Revisão bibliográfica. **UNICRUZ**, v. 2, n. 1, (jan-jun.), 2019.

CASTELLANO, M. C - Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

CHAVES, R. O; FERANTI, J. P. S; COPAT, B; RIPPLINGER, A; FRANÇA, R. T; KOMMERS, G. D; FIGHERA, R. A; MAZZANTI, A. Neoplasias encefálicas em 40 cães: aspectos clínico epidemiológicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2018.

CHRISMAN, C. L; SUMMERS et al, B. A. Cinomose canina: Revisão de Literatura **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

COUTO, C. G; HOSKINS, J. D; NÉLSON, R. W; QUINN, P. J. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, 2016.

DEL CARLO, R. J; ZAGO, M. A; DIAS, R. P; REGENERA STEM CELLS. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa, 2016.

DE ROSA, A; CUI, X. P. U. L. L. Tratamento com células tronco mesenquimais em cães com paresia como sequela neurológica da infecção pelo vírus da cinomose. **Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**, 2019.

ETTINGER, S. J; FELDMAN, E. C. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

FREITAS, L. A. Análise filogenética do gene de fusão de cepas brasileiras do vírus da cinomose canina em Cães. **Universidade Estadual de Londrina**, 2017.

FREIRE, C. G. V; MORAES, M. E. Cinomose canina: aspectos relacionados ao diagnóstico, tratamento e vacinação. **PUBVET**, v. 13, n.2, a 263, p. 1-8, fev. 2019.

GAGE, F. H; FRITSCH, M; ROCHA, A. S; DIAS, R. P. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa .2016.

GREENE, C. E; APPEL, M. J. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

GREENE, C. E; VANDEVELDE, M. Cinomose canina: aspectos relacionados ao diagnóstico, tratamento e vacinação. **PUBVET**, v. 13, n. 2, p. 1-8, 2019.

GUTIÉRREZ, M. M. B. Cinomose canina: aspectos relacionados ao diagnóstico, tratamento e vacinação. **PUBVET**, v. 13, n. 2, p. 1-8, 2019.

HAWKINS, E. C. Cinomose canina: Revisão de Literatura, **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017.

HUSS, R; BOBIS, R. Células-tronco mesenquimais: características, cultivo e uso na Medicina Veterinária. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 2014.

LAMB, R. A; PARKS, G. D - Análise filogenética do gene de fusão de cepas brasileiras do vírus da cinomose canina em cães. **Universidade Estadual de Londrina**, Londrina - PR .2017.

LEMPP, C.; SPITZBARTH, I.; PUFF, C. et al. Células-tronco mesenquimais em cães com leucoencefalite desmielinizante como modelo experimental de esclerose múltipla. **UNESP**, v. 5, e. 6, p. 2571-2601, jun. 2019.

MARTINS, D. B.; LOPES, S. T. D. A.; FRANÇA, R. T. Diagnóstico e controle da cinomose canina. **PUBVET**, 2013.

MCLAREN, A; FRITSCH, M; ROCHA, A. S; DIAS, R. P. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa. 2016.

MORENO, A.; WEBER, L. D. Revisão Bibliográfica- Cinomose Canina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v.2, n. 1, jan./jun. 2019.

MULLER, V. S. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**. Lisboa .2016.

MORO, L; ALVES C. M; SANTOS, F. G. A; MARTINS, A. S; VASCONCELOS, A. C- Trabalho de pesquisa: Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante halogênico de células mononucleares de medula óssea. **MEDVEP**, (8- 24), 26-29. 2010.

NELSON, R. W; COUTO, C. G; SHERDING, R. G. Cinomose canina: Revisão de Literatura, **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.11, n.3(jul- set), p.162-171, 2017. 2017.

NIRMALANANDHAN, V. S; SITTAMPALAM, G. S. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**. Lisboa .2016.

PEREIRA, F. B. Comparação de métodos de diagnóstico para a cinomose canina, com ênfase nas alterações oculares. **Universidade Federal Do Paraná**, 2010.

PINHEIROS, L. L. Tratamento com células tronco mesenquimais em cães com paresia como sequela neurológica da infecção pelo vírus da cinomose. **Universidade de Brasília faculdade de agronomia e medicina veterinária**, 2019.

PIMENTEL, B. G. Células tronco do sangue de cordão umbilical (Scu) e suas aplicações. **Universidade Federal Do Paraná**, 2010.

PORTELA, V. A; LIMA, T. M; MAIA, R. C. C – Cinomose canina: Revisão de Literatura, **Medicina Veterinária (UFRPE)**, 2017.

PORFIRIO, C. A; VITOR, E; SOARES, J; PIRES, P. Células- tronco. **Instituto tecnológico da Paraíba curso técnico em enfermagem**, 2017.

RANNO, I. L; LESEUX, C. Diagnóstico De Cinomose Canina Por Teste Rápido No Hospital Veterinário FAG. **Centro Universitário FAG**, 2018.

ROCHA, A. S; DIAS, R. P. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa, 2016.

ROCHA, A. S; MAIA, L; GUASTALI, M. D; VOLPATO, R; ALVARENGA, F. C. L. Considerações Sobre Células-Tronco Embrionárias. **Veterinária e Zootecnia**, 2012.

ROSA, G. N. Cinomose Canina: Detecção e Análise Filogenética do Gene Hemaglutinina (H) em Amostras Clínicas e Necroscópica. **Universidade Estadual de Campinas**, 2007.

SANTOS, M. R. Cinomose em Cães Naturalmente Infectados: Técnicas Diagnósticas e Análise Filogenética do Gene da Hemaglutinina do Vírus da Cinomose. **UNESP**, 2018.

SANTOS, E. J. C; WINK, C. P; ALVES, C. A. M; FERNANDES, R. A. Trabalho de Pesquisa- Células – tronco mesenquimais alogênicas no tratamento das sequelas neurológicas de cinomose canina. **MEDVEP**, 2019.

SANTOS, E. J. C. Premissas da terapia celular no contexto da medicina veterinária. **Celltrovet atividades veterinárias**, 2018.

SANTOS, E. J. Tratamento com células tronco mesenquimais em cães com paresia como sequela neurológica da infecção pelo vírus da cinomose. **Universidade de Brasília faculdade de agronomia e medicina veterinária**, 2019.

SANTOS, A. L; QUEIROZ, L. M. V; OLIVEIRA, L. G. A; MALARD, P. F; GEORGES, J. A. O; XAVIER, M. C. Tratamento com Células-Tronco Mesenquimais de Cães Apresentando Sequela Neurológica Decorrente da Cinomose - Relato De Caso - **ANCLIVEPA**, 2015.

SAWATSKY, B; VON MESSLING, V. Revisão bibliográfica: Cinomose canina. **UNICRUZ**, Vol. 2, no 1, jan/jun. 2019.

SANTOS, M. H. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, 2017.

SILVA, A. C. O. Utilização De Células-Tronco Na Medicina Veterinária. **17º Congresso Nacional De Iniciação Científica**, 2017.

SILVA, M. C. Avaliação neurológica de cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, 2017.

SILVA, M. C. Neuropatologia Da Cinomose Canina. **Universidade Federal de Santa Maria**, 2009.

SORRELLS, L; SAPOLSKY, R. M CRIVELLENTI, L. Z; CRIVELLENTI, S. B. Cinomose canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, 2017.

SHERDING, R. G. Trabalho de pesquisa: Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante halogênico de células mononucleares de medula óssea. **Universidade de Campinas**, 2010.

TORRES, J. B. B. J; RIBEIRO, V. M. Clínica Medica: Cinomose nervosa canina: patogenia, diagnóstico, tratamento e prevenção. **MEDVEP**, 2012.

WEBSTER, R. A; MULLER, V. S. Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa, 2016.

WEISSMAN, I. L; ODORICO, J. S; KAUFMAN, D. S; THOMSON, J. Células-tronco: uma Breve Revisão. **Revista Científica de Biologia**, 2003.