



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
NÚCLEO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO NA ÁREA DE CLÍNICA MÉDICA E CIRÚRGICA DE GRANDES
ANIMAIS**

**USO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS COMO TERAPIA
REGENERATIVA NA OSTEOARTRITE EM EQUINOS: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA QUALITATIVA**

LAYS ANTONELLE OLIVEIRA SOUZA

**NOSSA SENHORA DA GLÓRIA – SERGIPE
2020**

Lays Antonelle Oliveira Souza

Trabalho de conclusão do estágio supervisionado obrigatório na área de clínica médica e cirúrgica de grandes animais

Uso de células tronco mesenquimais como terapia regenerativa na osteoartrite em equinos: uma revisão sistemática qualitativa

Trabalho apresentado à Coordenação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^{ta}. Dr^a. Monalyza Cadorei Gonçalves

Nossa Senhora da Glória – Sergipe
2020

LAYS ANTONELLE OLIVEIRA SOUZA

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO NA ÁREA DE CLÍNICA MÉDICA E CIRÚRGICA DE
GRANDES ANIMAIS**

Aprovado em ____/____/____

Nota: _____

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Monalyza Cadorei Gonçalves
Núcleo de Medicina Veterinária – UFS – Sertão
(Orientadora)

Prof. Dr. André Flávio Almeida Pessoa
Núcleo de Medicina Veterinária – UFS – Sertão

Prof.^a Dr.^a Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplicio
Núcleo de Medicina Veterinária – UFS – Sertão

Nossa Senhora da Glória – Sergipe
2020

IDENTIFICAÇÃO

DISCENTE: Lays Antonelle Oliveira Souza

MATRÍCULA Nº: 201500435003

ORIENTADOR: Prof^a. Dr^a. Monalyza Cadori Gonçalves

LOCAIS DO ESTÁGIO:

1. Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV – UFMG)

Endereço: Avenida Antônio Carlos, 662, CEP 31.270-901, Belo Horizonte – MG, Brasil

Carga horária: 520 horas

2. Unidade de Saúde Equina (USE).

Endereço: Povoado Sobrado, Rodovia Principal, SN, CEP 49.400-000,

Lagarto – SE, Brasil

Carga horária: 160 horas

COMISSÃO DE ESTÁGIO DO CURSO:

Prof^a. Dr^a. Débora Passos Hinojosa Schäffer

Prof^a. Dr^a. Monalyza Cadori Gonçalves

Prof. Dr. Victor Fernando Santana Lima

Dedico este trabalho aos cavalos,
inspiração na escolha da minha
profissão e que me despertam um
amor difícil de domar.

AGRADECIMENTOS

Senhor, hoje te agradeço por esta vitória, pois sem a tua ajuda e o teu apoio jamais teria alcançado!

À minha família agradeço pelo amor incondicional, conforto, segurança e dedicação, especialmente nos momentos em que me apoiaram e ajudaram nas minhas crises nervosas, isso foi fundamental. O que seria de mim sem vocês? EU AMO TODOS!

Aos meus colegas de faculdade que sempre vou levar no meu coração, Mirelly, Victória, Lu (as gracats), Virginia, Bruno, Bárbara, Rafaelle, Renata, Laryssa e todos aqueles que fizeram parte dessa jornada. Obrigada por tanto!

À minha melhor amiga de graduação e da vida Adler Kamila, a qual agradeço pela amizade, apoio e pelo esforço em me fazer sentir bem. Muito OBRIGADA por ser a minha melhor amiga-irmã de alma e estar comigo em todos os momentos.

Ao José Teixeira (Teixeirinha) por compartilhar seus conhecimentos e me ajudar sempre quando precisei! A USE foi essencial para a construção do meu conhecimento.

À Catarina pelos conselhos durante minha graduação. Você é exemplo e representa a força da mulher na veterinária!

Aos meus amigos de estágio, Robinho (é noix), Giulia, Rafa, Lane e Thaisla e aos residentes da UFMG Malu, João Victor e Laryssa que foram muito importantes nesta etapa! Obrigado por serem tão maravilhosos!

E por fim, aos professores da UFS Sertão, André, Clarice, Ana, Rose, Kalina, Victor, Paula, à minha orientadora Monalyza (Mona), e todos aqueles que juntos contribuíram para o nosso crescimento ético e profissional. Obrigada por acreditarem em nós!

“Sem lutas não há vitórias. ”

Autor desconhecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO	2
2.1. HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (HV-UFMG)	2
2.1.1. Estrutura funcional e física do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) – Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais	2
2.1.2. Atividades desenvolvidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG)	4
2.2. UNIDADE DE SAÚDE EQUINA (USE).....	5
2.2.1. Estrutura funcional e física da Unidade de Saúde Equina (USE).....	6
2.2.2. Atividades desenvolvidas na Unidade de Saúde Equina (USE)	7
2.3. CASUÍSTICA ACOMPANHADA DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)	8
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. COMPONENTES ARTICULARES	15
3.1.1. Cartilagem articular.....	15
3.1.2. Osso subcondral.....	17
3.1.3. Cápsula articular e membrana sinovial	17
3.1.4. Líquido sinovial	18
3.2. OSTEOARTRITE (OA).....	19
3.2.1. Etiopatogenia	20
3.2.2. Diagnóstico	21
3.2.3. Tratamento.....	22
3.2.3.1. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES).....	22
3.2.3.2. Corticosteroides	22

3.2.3.3. Ácido Hialurônico (HA).....	23
3.2.3.4. Terapias biológicas.....	23
3.2.3.4.1. Soro autólogo condicionado	23
3.2.3.4.2. Plasma Rico em Plaquetas (PRP)	24
3.2.3.4.3. Estanozolol	24
3.2.3.4.4. Células tronco mesenquimais (CTMs)	25
4. O USO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS COMO TERAPIA REGENERATIVA NA OSTEOARTRITE EQUINA.....	27
4.1. INTRODUÇÃO.....	27
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.3.1. Características amostrais e analíticas dos estudos <i>in vivo</i>	29
4.3.2. Efeito das células tronco mesenquimais (CTMs).....	30
4.3.2.1. Origem tecidual	30
4.3.2.2. Quantidade de células tronco mesenquimais (CTMs) e número e intervalo de aplicações	32
4.3.2.3. Autólogas <i>versus</i> alogênicas	33
4.3.2.4. Uso de terapias adjuvantes	35
4.3.2.5. Lesões adquiridas naturalmente e induzidas experimentalmente.....	36
4.3.3. Avaliações	37
4.3.3.1. Avaliações dos sinais inflamatórios (avaliação articular e grau de claudicação).....	37
4.3.3.2. Avaliação citológica e bioquímica do líquido sinovial	39
4.3.3.3. Avaliação de imagem	41
4.3.3.4. Avaliação <i>post-mortem</i>	42
4.3.3.5. Efeitos colaterais	43
4.4. CONCLUSÃO.....	44
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45

6. REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE A – TABELA DE RESUMO COM AS CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS COM ANIMAIS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA	58
APÊNDICE B – TABELA DE RESUMO DOS PARÂMETROS AVALIADOS E RESULTADOS DOS ESTUDOS COM ANIMAIS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Casos clínicos acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) e na Unidade de Saúde Equina (USE) entre os meses de julho a novembro de 2019.....	9
Tabela 2. Casos cirúrgicos acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) entre o período de 1 de julho a 27 de setembro de 2019.	10
Tabela 3. Quantidade de trabalhos obtidos pela busca no <i>Pubmed</i> e <i>Science Direct</i> para cada termo utilizado na pesquisa.	28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Área de avaliação física de grandes animais com tronco de contenção e entrada para sala dos residentes. Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) – Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, setembro de 2019. Fonte: Rafaela Requia..... 3
- Figura 2.** Galpão de equinos do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) - Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, setembro de 2019. A: redondel; B: corredor com acesso às baias de internamento. Fonte: arquivo pessoal. 3
- Figura 3.** Bloco cirúrgico do setor de clínica médica e cirúrgica de grandes animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM), setembro de 2019. A: sala para procedimentos em estação; B: sala de indução e recuperação anestésica; C: sala de cirurgia. Fonte: arquivo pessoal. 4
- Figura 4.** Entrada da Unidade de Saúde Equina (USE) e corredor de acesso às dependências da clínica e às baias de internamento, outubro de 2019. Fonte: arquivo pessoal..... 6
- Figura 5.** Baias de internamento da Unidade de Saúde Equina (USE), outubro de 2019. A: estrutura externa da baia. B: estrutura interna da baia com paciente. Fonte: arquivo pessoal. .. 7
- Figura 6.** Área de avaliação física de equinos com tronco de contenção e entrada para desembarque dos animais. Unidade de Saúde Equina (USE), outubro de 2019. Fonte: arquivo pessoal. 7
- Figura 7.** Desenho esquemático da cartilagem articular. Fonte: Van Weeren, 2016 15
- Figura 8.** Desenho de uma articulação normal, à esquerda, e com OA (osteoartrite) à direita. HA: ácido hialurônico. Fonte: Frisbie & Johnson, 2019..... 19
- Figura 9.** Organograma da seleção dos artigos para a revisão sistemática qualitativa sobre o efeito de células-tronco mesenquimais (CTMs) em osteoartrites (OA) de equinos..... 29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Casuística por sistema de 33 casos, entre clínicos e cirúrgicos, acompanhada durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) no período entre 1 de julho a 27 de setembro de 2019 11

Gráfico 2. Casuística por sistema de 20 casos, entre clínicos e cirúrgicos, acompanhada durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) na Unidade de Saúde Equina (USE) no período entre 7 de outubro a 1 de novembro de 2019. 11

Gráfico 3. Casuística por sistemas, incluindo casos clínicos e cirúrgicos, dos 53 animais ao total acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) e na Unidade de Saúde Equina (USE) entre os meses de julho a novembro de 2019..... 12

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAEP: *American Association of Equine Practitioners*
- ADSCs: *Adipose-derived stem cells*
- AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais
- BMSCs: *Bone marrow stromal cells*
- COMP: Proteína da matriz oligomérica da cartilagem
- COX: Cicloxigenase
- CT: Células tronco
- CTMs: Células tronco mesenquimais
- ESO: Estágio supervisionado obrigatório
- FVE: Fração vascular estromal
- GAGs: Glicosaminoglicanos
- HA: Ácido hialurônico
- HV - UFMG: Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais
- IL-1 β : Interleucina-1 beta
- IL-1: Interleucina-1
- LPS: lipopolissacarídeo
- MEC: Matriz extracelular
- MHC: *Major histocompatibility complex*
- MMPs: Metaloproteinases
- OA: Osteoartrite
- PBSC: *Peripheral blood stem cells*
- PGE₂: Prostaglandina E₂
- PGs: Proteoglicanos
- PRP: Plasma rico em plaquetas
- PTOA: *Post traumatic osteoarthritis* (osteoartrite pós-traumática)
- RM: Ressonância magnética
- TC: Tomografia computadorizada
- TNF α : Fator de necrose tumoral alfa
- UCSC: *Umbilical cord stem cells*
- US: Exame ultrassonográfico

USE: Unidade de Saúde Equina

RESUMO

Este trabalho relata o estágio supervisionado obrigatório (ESO) em Clínica e Cirurgia de Grandes animais e Clínica Médica de Equinos, motivado pelo interesse e afinidade de atuar nestas áreas e necessidade de aprofundamento prático. O ESO foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG; Belo Horizonte – MG), de julho a setembro de 2019, e na Unidade de Saúde Equina (Lagarto – SE), de outubro a novembro de 2019. Além das atividades acompanhadas durante o ESO nas diferentes instituições, é apresentada uma revisão sistemática qualitativa sobre o uso de células tronco mesenquimais (CTMs) como terapia regenerativa em articulações osteoartíticas de equinos. A pesquisa foi fundamentada em artigos científicos encontrados nas bases de dados *Pubmed* e *Science Direct* em fevereiro de 2020, publicados entre os anos de 2007 a 2020. No total, 15 trabalhos foram incluídos com os critérios de serem estudos *in vivo* com CTMs equinas, autólogas ou alogênicas, originadas de qualquer tecido, aplicadas por via intra-articular, com ou sem combinação de outras terapias biológicas, usadas para tratamento de lesões associadas a osteoartrites (OA) induzidas ou adquiridas. Os estudos consistiram de oito estudos randomizados duplo-cego, cego ou apenas randomizado (sendo três multicêntricos), de placebo-controle ou não; seis não randomizados (sendo quatro placebo-controle, um estudo piloto, um preliminar e uma série prospectiva de casos), e um estudo de laboratório controlado. Os efeitos imunomodulador e reparador das CTMs foram demonstrados na maioria dos estudos por meio da redução dos sinais clínicos inflamatórios e da melhora histológica e bioquímica articular nos equinos com lesões articulares. No entanto, a variabilidade dos fatores que podem influenciar o efeito da terapia gênica em OA de equinos, dificultou conclusões mais específicas entre os estudos. Estudos multicêntricos mais homogêneos e com acompanhamento dos animais a longo prazo poderão fornecer amostragem adequada e obtenção de resultados estatisticamente significativos e reproduzíveis.

Palavras-chave: alogênica, articulação, autóloga, cavalo, terapia celular.

1. INTRODUÇÃO

A clínica médica e cirúrgica de grandes animais é uma área relevante de atuação do médico veterinário considerando a presença de ruminantes e equinos no agronegócio e cultura desportiva, contribuindo para a sustentabilidade familiar e a economia brasileira. Ainda que com variações regionais, devido à aptidão atribuída a essas espécies, a clínica médica e cirúrgica de grandes animais possui uma casuística comum em núcleos hospitalares e a campo, exigindo do médico veterinário conhecimento dos métodos diagnósticos e terapêuticos para adequado atendimento individual e de rebanho, assim como para o encaminhamento quando necessário.

A necessidade de conhecimento teórico-prático e aprimoramento das habilidades desenvolvidas durante o curso de graduação em Medicina Veterinária levou à escolha de realização do Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) nas áreas de clínica e cirurgia de grandes animais. O relatório do ESO contém a descrição das atividades e a relação dos casos acompanhados durante o período de estágio.

A osteoartrite (OA) foi uma das doenças acompanhadas nos atendimentos de equinos durante o ESO. O impacto de sua ocorrência na saúde do animal motivou o aprofundamento sobre o tema. A degeneração da cartilagem articular, característica da OA, tem sido o alvo de muitos estudos científicos buscando métodos terapêuticos para a regeneração deste tecido. As células tronco mesenquimais (CTMs) vêm sendo utilizadas como agente biológico favorecedor desta restauração. Neste trabalho, a doença e as características das CTMs estão apresentadas em forma de revisão de literatura e sua atuação na OA equina são discutidas em uma revisão sistemática qualitativa.

2. RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

2.1. HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (HV-UFGM)

A primeira parte do ESO foi realizada no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM), em Belo Horizonte – MG, na área de clínica médica e cirúrgica de grandes animais, no período de 1 de julho a 27 de setembro, tendo como supervisor o médico veterinário Dr. Rafael Resende Faleiros, professor titular da UFGM.

2.1.1. Estrutura funcional e física do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) – Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais

O HV desenvolve atividades de ensino, pesquisas e extensão ligadas aos quatro departamentos da universidade. O HV é formado pelos setores de Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Patologia, Reprodução e Divisão de Enfermagem.

O atendimento ao público ocorre de segunda à sexta-feira, das 8h às 21h e nos finais de semana das 8h às 18h. Os serviços disponibilizados incluem consultas, cirurgias e exames laboratoriais e de imagem, sendo atendidos animais domésticos de grande e pequeno porte e algumas espécies de animais selvagens.

O corpo técnico do HV é composto de médicos veterinários residentes, professores, pós-graduandos e médicos veterinários contratados pela Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. Estagiários curriculares, que estão a cumprir o ESO, e estagiários da própria instituição, através do programa de vivência, acompanham os atendimentos e ajudam na rotina diária. O local funciona também com ajuda de secretárias, técnicos em administração, farmacêuticos, técnicos em radiologia e auxiliares de limpeza e serviços gerais.

Em sua estrutura, o HV dispõe de ambulatórios para atendimento, centros cirúrgicos, farmácia, salas de radiologia, laboratórios de análises clínicas, microbiologia, parasitologia, setor de necropsia, canis, blocos de internação para animais de pequeno e grande porte, sala para armazenamento de ração e feno, alojamento para plantonistas e banheiros.

O setor de clínica e cirurgia de grandes animais da UFGM é composto pelo galpão de equinos e o bloco de cirurgia. No galpão, há o tronco de contenção física que dá acesso à sala de uso dos residentes para armazenamento de fichas e documentos (Figura 1), dezesseis baias,

um redondel e dois piquetes (Figura 2). O setor também dispõe de mais dois piquetes. O bloco cirúrgico possui sala de indução e recuperação anestésica, sala de cirurgia geral, sala para cirurgias em estação (Figura 3), sala de paramentação, sala de esterilização de materiais cirúrgicos, lavanderia, vestiário e banheiro.



Figura 1. Área de avaliação física de grandes animais com tronco de contenção e entrada para sala dos residentes. Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) – Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, setembro de 2019. Fonte: Rafaela Requia.



Figura 2. Galpão de equinos do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) - Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, setembro de 2019. A: redondel; B: corredor com acesso às baias de internamento. Fonte: arquivo pessoal.

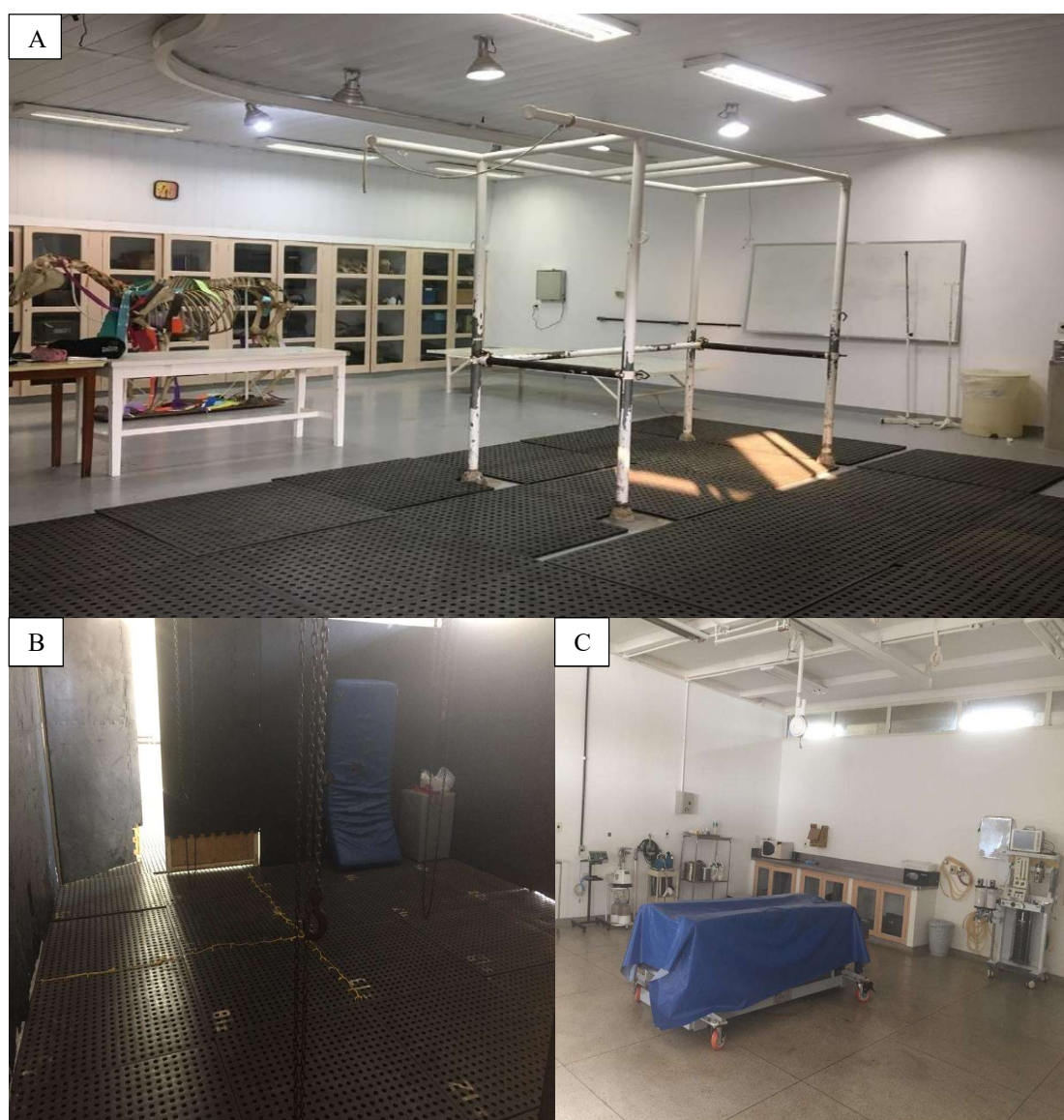


Figura 3. Bloco cirúrgico do setor de clínica médica e cirúrgica de grandes animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM), setembro de 2019. A: sala para procedimentos em estação; B: sala de indução e recuperação anestésica; C: sala de cirurgia. Fonte:

2.1.2. Atividades desenvolvidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM)

As atividades de estágio desenvolvidas no setor de clínica médica e cirúrgica de grandes animais, mais especificamente no galpão de equinos, ocorriam junto aos serviços realizados no período de atendimento ao público e no horário de plantão ao se auxiliar pacientes em cuidados intensivos. Algumas atividades eram realizadas no galpão de ruminantes quando surgiam casos cirúrgicos (Clínica Médica de Ruminantes). O estágio consistiu da realização de

exame físico geral diário de todos os pacientes internados, acompanhamento de exames físicos específicos e complementares (exames radiográficos e ultrassonográficos), participação em procedimentos cirúrgicos e de pós-operatório e colaboração em aulas práticas do curso de graduação realizadas no setor de cirurgia.

Dentre os exames físicos específicos acompanhados em equinos, os exames ortopédicos eram os mais realizados devido à incidência de animais que chegavam com claudicação. Os exames ortopédicos consistiam da inspeção clínica, palpação e avaliação do cavalo em exercício. Conhecido também como exame dinâmico, a avaliação do equino em exercício era realizada observando o animal ao passo e ao trote em linha reta e, em seguida, em círculos. Em meio ao exame dinâmico, eram realizados os testes de flexão seguidos dos bloqueios anestésicos perineurais. Após a confirmação do local da dor ou em caso de dúvidas, o animal era submetido aos exames de radiografia e ultrassonografia para avaliação das lesões. Nos casos de infiltração articular, perfusão regionais e outros procedimentos aos quais necessitasse uma antissepsia rigorosa, o animal era colocado no tronco de contenção da sala do bloco cirúrgico.

Variados procedimentos ambulatoriais foram realizados sob supervisão do residente responsável, como colheitas de sangue, diluição e aplicação de medicamentos, confecção de curativo, cateterização venosa, passagem de sonda nasogástrica e bloqueios anestésicos perineurais. Executou-se também outras atividades como alimentação e passeio dos animais.

Os procedimentos cirúrgicos acompanhados eram efetuados pelo professor da área e pelos residentes, realizados em sua maioria durante aulas práticas. Nas cirurgias que ocorriam fora do horário de aula, era possível auxiliar ou dar assistência com a entrega de materiais. Acompanhou-se o pós-operatório junto aos residentes, incluindo no período noturno e de plantões. Algumas das aulas práticas acompanhadas ocorreram nas fazendas experimentais da universidade.

Durante as atividades junto aos pacientes ou após a apresentação de seminários, participou-se de discussões guiada pelos professores e residentes sobre o diagnóstico e terapêutica dos casos atendidos.

2.2. UNIDADE DE SAÚDE EQUINA (USE)

A segunda parte do ESO foi realizada na clínica Unidade de Saúde Equina (USE), Lagarto-SE, de 7 de outubro a 1 de novembro, na área de clínica médica de equinos sob a supervisão do médico veterinário José Teixeira Moreira Neto.

2.2.1. Estrutura funcional e física da Unidade de Saúde Equina (USE)

A USE assiste equinos que precisam de atendimento clínico ou de pequenas cirurgias, como castrações e herniorrafias, realizadas tanto em sua estrutura própria quanto a campo. Os animais em situação crítica são levados para a clínica. Dentre os procedimentos realizados a campo estão os odontológicos e as colheitas de sangue para exames diversos.

A clínica funciona no período matutino e vespertino e, em casos de emergência, os atendimentos são realizados durante a noite, todos os dias da semana. Devido ao médico veterinário residir na clínica, os horários de atendimento se tornam mais acessíveis aos proprietários dos animais.

O corpo clínico da USE, durante o ESO, consistiu do médico veterinário José Teixeira, contando com ajuda de funcionários para a alimentação dos animais e limpeza das baias e do estabelecimento.

A clínica USE possui um tronco de contenção física (figura 5), sala de indução para pequenas cirurgias eletivas, oito baias (figura 6), estando duas em construção, laboratório usado para o armazenamento de sangue, farmácia, escritório do profissional responsável, sala de maceração de capim e armazenar ração, banheiro para os clientes e estagiários, dois quartos para estagiários, piquete, dois pastos e rampa para desembarque dos animais. A clínica possui ainda um aparelho para ozonioterapia para tratamento suporte para lesões cutâneas e materiais odontológicos para ajuste de oclusão dentária e exodontias.



Figura 4. Entrada da Unidade de Saúde Equina (USE) e corredor de acesso às dependências da clínica e às baias de internamento, outubro de 2019. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 6. Área de avaliação física de equinos com tronco de contenção e entrada para desembarque dos animais. Unidade de Saúde Equina (USE), outubro de 2019. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 5. Baias de internamento da Unidade de Saúde Equina (USE), outubro de 2019. A: estrutura externa da baia. B: estrutura interna da baia com paciente. Fonte: arquivo pessoal.

2.2.2. Atividades desenvolvidas na Unidade de Saúde Equina (USE)

A rotina durante o estágio na USE iniciava-se no período matutino com a realização dos curativos e sessões de ozonioterapia, estas realizadas três dias na semana em todos os pacientes internados. No período da tarde, os atendimentos eram a campo, acompanhando o médico veterinário responsável, podendo o animal ser atendido na propriedade ou ser levado para a

clínica. Plantões também faziam parte da rotina em pacientes que precisavam de cuidado intensivo.

As atividades comumente executadas, sob acompanhamento do profissional responsável, consistiram em realização de curativos com troca de bandagens e limpeza das feridas, medicação dos animais internados, colheita de sangue para exame de anemia infecciosa equina e mormo, acompanhamento de atendimentos odontológicos e procedimentos de ozonioterapia.

O acompanhamento de casos de síndrome cólica, lacerações graves, exodontia e orquiectomias eletivas, que eram atendidos apenas na clínica, oportunizaram a execução de passagem de sonda nasogástrica e participação como auxiliar nas castrações e nos procedimentos odontológicos.

2.3. CASUÍSTICA ACOMPANHADA DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

No período de estágio no HV, acompanhou-se o atendimento de 33 animais, sendo 30 equinos, dois bovinos e um (1) caprino. Na espécie equina, a raça Mangalarga Marchador (20/30) teve a maior prevalência entre os atendimentos, seguido da raça Brasileiro de Hipismo (4/30). Os outros eram Puro Sangue Árabe, Puro Sangue Lusitano ou Quarto de Milha. Dentre os casos acompanhados, 16 foram tratados clinicamente e 17 foram cirúrgicos.

No estágio na USE foram acompanhados 20 atendimentos, sendo 16 cavalos machos e quatro éguas. A raça predominante foi Quarto de Milha (13/20) seguida por Mangalarga Marchador (7/15). Dentre os casos acompanhados, apenas sete foram cirúrgicos.

Os casos clínicos e cirúrgicos não eletivos em equinos acompanhados durante todo o ESO, em ambos os locais, estão discriminados nas tabelas 1 e 2 de acordo com os respectivos sistemas. Nos gráficos 1, 2 e 3 se encontram a procedência da casuística acompanhada por sistemas.

Tabela 1. Casos clínicos acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) e na Unidade de Saúde Equina (USE) entre os meses de julho a novembro de 2019.

Sistema	HV	USE	Total
<i>Locomotor</i>	9	4	13
Laminite MTE e MTD	1	1	2
Cancro da ranilha MTE e MTD	-	1	1
Artrite séptica da articulação metacarpofalângica do MTE	1	-	1
Bursite bicipital e artropatia da articulação escápulo-umeral	1	-	1
Entesopatia e desmopatia do ligamento suspensor	1	-	1
Síndrome navicular	1	-	1
Ruptura de tendões			
Ruptura do TFDS e TFDP	1	-	1
Ruptura do TFDP	-	1	2
Ruptura do TEDC	1	-	1
Miopatia e fibrose muscular	-	1	1
OA das articulações rádiocárpica e intercárpica	1	-	1
Discopatia lombossacral	1	-	1
<i>Tegumentar</i>	4	6	10
Lacerações de pele	2	3	5
Fístula por corpo estranho na região da axila	1	-	1
Pitiose			
Pescoço – região lateral esquerdo	-	1	1
Mandíbula – região ventral	-	1	1
Face – região lateral e medial ao carpo	-	1	1
Habronemose	1	-	1
<i>Digestório</i>	2	3	5
Cólica clínica			
Compactação de cólon maior	1	1	2
Cólica espasmódica	-	1	1
Etiologia desconhecida	1	1	2
<i>Respiratório</i>	1	-	1
Empiema de bolsa gutural	1	-	
Total de casos	16	13	29

MTE: membro torácico esquerdo; MTD: membro torácico direito; TFDS: tendão flexor digital superficial; TFDP: tendão flexor digital profundo; TEDC: tendão extensor digital comum; OA: osteoartrite.

Tabela 2. Casos cirúrgicos acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFGM) entre o período de 1 de julho a 27 de setembro de 2019.

Sistema	Número de casos
<i>Digestivo</i>	4
Cólica Cirúrgica Intussuscepção cecoecal Compactação de íleo Fístula mandibular Fratura do 3° pré-molar	
<i>Locomotor</i>	3
Colapso da cartilagem articular da articulação metacarpofalângica do MTE Luxação da articulação metacarpofalângica do MTE Fratura do 2° metatarsiano e OA da articulação intertársica	
<i>Tegumentar</i>	3
Fístulas Inguinal (por corpo estranho) Inguinal e prepucial (etiologia desconhecida) Estenose de ouvido externo	
<i>Reprodutor</i>	1
Criptorquidismo (abdominal parcial)	
<i>Oncológico</i>	1
Carcinoma de células escamosas (face lateral direita)	
<i>Outros</i>	1
Esquistossomia de musculatura abdominal	
Total de casos	13

MTE: membro torácico esquerdo; OA: osteoartrite.

Cada tipo de caso descrito contabiliza um paciente.

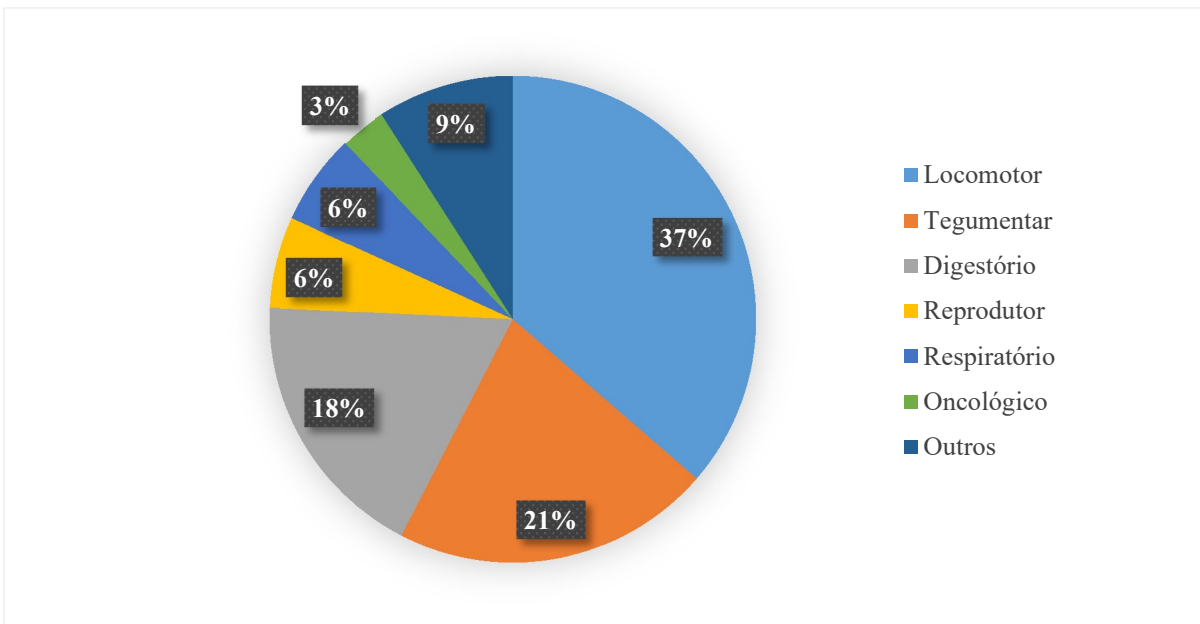


Gráfico 1. Casuística por sistema de 33 casos, entre clínicos e cirúrgicos, acompanhada durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) no período entre 1 de julho a 27 de setembro de 2019.

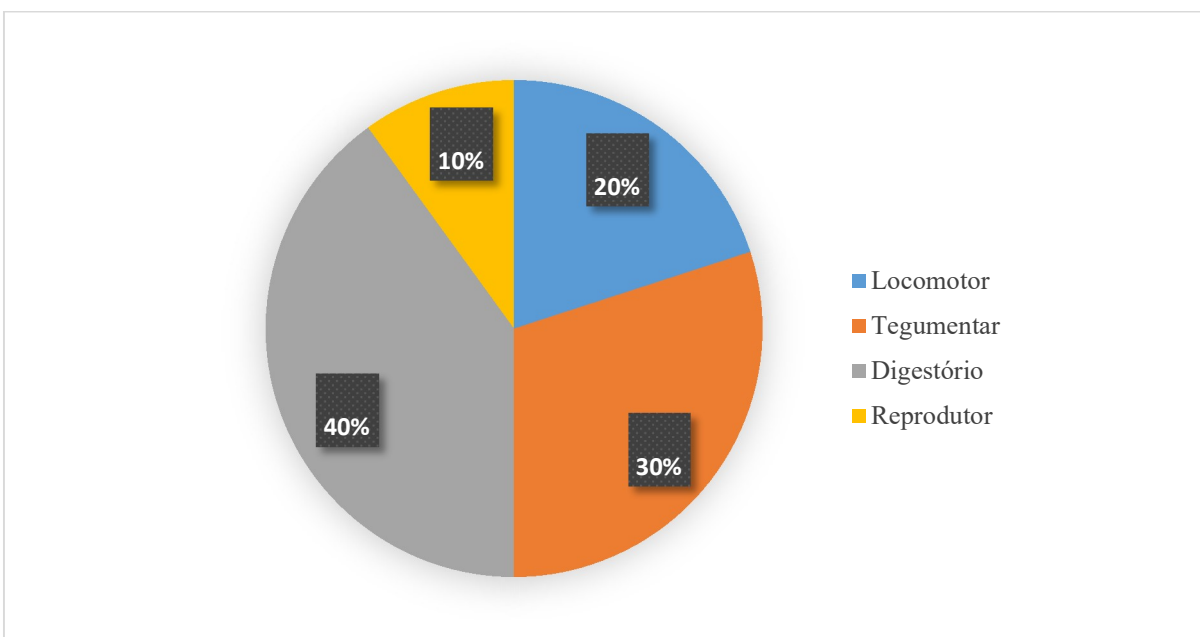


Gráfico 2. Casuística por sistema de 20 casos, entre clínicos e cirúrgicos, acompanhada durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) na Unidade de Saúde Equina (USE) no período entre 7 de outubro a 1 de novembro de 2019.

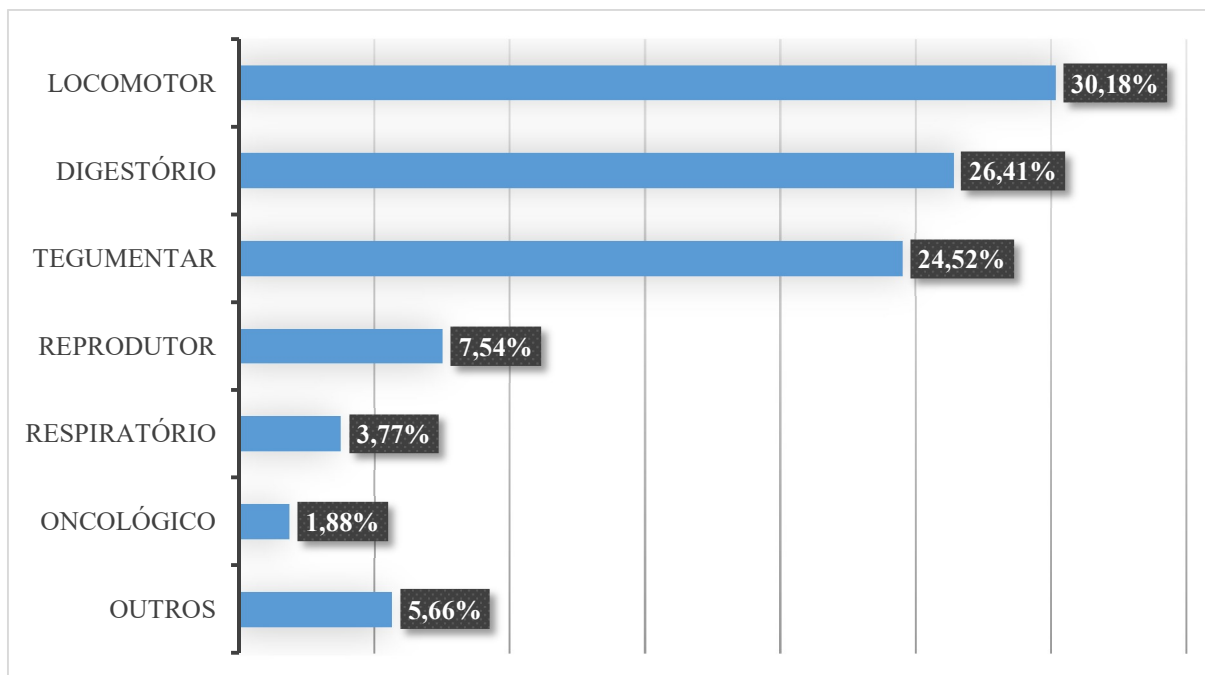


Gráfico 3. Casuística por sistemas, incluindo casos clínicos e cirúrgicos, dos 53 animais ao total acompanhados durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) e na Unidade de Saúde Equina (USE) entre os meses de julho a novembro de 2019.

Dentre as cirurgias eletivas em equinos, foi acompanhada apenas uma no HV, a qual consistia de uma orquiectomia. Na clínica USE, todas as cirurgias acompanhadas foram eletivas, correspondendo a duas orquiectomias e cinco extrações dos primeiros pré-molares, habitualmente chamados de “dentes de lobo”.

Em ruminantes, no HV, foram realizadas uma traqueostomia em uma vaca adulta com dispneia devido à hemiplegia de laringe e duas descornas eletivas em aulas práticas.

Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Mangalarga Marchador (2017), o estado de Minas Gerais é considerado o berço desta linhagem/raça no Brasil, explicando a grande concentração destes cavalos na região e a prevalência nos atendimentos do HV. As afecções locomotoras acompanhadas no HV podem ser em parte justificadas também pelos animais serem submetidos ainda jovens à prática de esportes de salto e às modalidades de andamentos, expondo os animais a exercícios contínuos, como é o caso dos cavalos da raça Brasileiro de Hipismo e Mangalarga Marchador.

No Nordeste, os cavalos Quarto de Milha são frequentemente introduzidos no esporte da Vaquejada, durante o qual têm contato físico com outra espécie de animal e são submetidos a exercícios frequentes, a manejo alimentar dobrado e a outros tipos de situações que podem aumentar a incidência das afecções ocorridas nesta raça.

Durante o período total de ESO, as cólicas clínicas e cirúrgicas seguidas das lesões articulares e lacerações de pele, foram as afecções mais acompanhadas. As cirurgias de cólica, comparadas às outras afecções, demandavam um pós-operatório mais rigoroso e um tempo de internamento maior. Dos casos cirúrgicos acompanhados, a esquistossomia de musculatura abdominal apresentou uma maior complexidade quando comparada às outras, tendo um pós-operatório delicado e prognóstico desfavorável.

Cada caso acompanhado proporcionou diversos aprendizados teóricos e práticos, destacando as formas e maneira de conduzir o diagnóstico e tratamento. Os casos cirúrgicos serviram de aprendizado sobre a prática e condutas no ambiente cirúrgico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A osteoartrite (OA) é um problema clínico comum e a principal causa de claudicação em cavalos de esporte e lazer (MCILWRAITH, 2016). Pesquisas apontam a OA como a causa prevalente em cerca de 60% dos casos de claudicação em equinos (CARON & GENOVESE, 2003; CARON, 2011). A OA equina acaba ocasionando incapacidade de locomoção, queda no desempenho atlético e perda na qualidade de vida do animal. Na AO, os processos fisiológicos normais da cartilagem articular estão desregulados, o que por sua vez, levam a anormalidades bioquímicas, estruturais e biomecânicas em toda a articulação e tecidos envolventes. Se o trauma não for tratado, haverá destruição progressiva de todo o tecido cartilaginoso (MCILWRAITH, 1996; CARON, 2011; VAN WEEREN, 2014, LOPEZ & JARAZO, 2014).

A escolha do tratamento e prognóstico da OA é influenciada pelo estágio da doença, grau de inflamação existente na articulação, diagnóstico preciso e específico, técnicas de tratamento disponíveis e tempo de reabilitação (MCILWRAITH, 2006; FRISBIE & JOHNSON, 2019). Frisbie e Johnson (2019) ressaltam que “tratar doenças articulares é uma arte e não segue nenhuma receita específica”, denotando a variabilidade e limitação das opções terapêuticas usadas para resolução da degeneração articular (MCILWRAITH, 2006). A OA é tratada por meio de intervenções articulares (lavagens ou aplicações de medicamentos intra-articulares), aplicações de medicamentos convencionais sistêmicos (anti-inflamatórios não esteroidais – AINES) com repouso e fisioterapias, além de intervenções cirúrgicas (curetagem da cartilagem ou osso; artrodese cirúrgica, etc) quando necessário (MCILWRAITH, 2006).

O campo da medicina regenerativa tem atraído a atenção científica pelo seu potencial terapêutico no tratamento de diferentes doenças articulares proporcionando opções terapêuticas com o intuito de restaurar a estrutura, a função dos tecidos, órgãos lesionados e aqueles prejudicados pelo tempo (BROECKX et al., 2014; LOPEZ & JARAZO, 2014). Essas abordagens incluem o uso de terapias biológicas derivadas do sangue ou de tecidos. As mais conhecidas e estudadas incluem o plasma rico em plaquetas (PRP), soro autólogo condicionado e as células-tronco (CT) (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

As células-tronco mesenquimais (CTMs) fazem parte das opções de tratamento da OA e sua aplicação terapêutica é uma grande promessa nesta área, embora ainda haja algumas lacunas de evidências científicas com casos clínicos (SCHNABEL et al., 2013). Para melhor entendimento de seu papel na terapia da OA, é pertinente uma revisão sobre as estruturas articulares, processo de lesão e degeneração articular.

3.1. COMPONENTES ARTICULARES

3.1.1. Cartilagem articular

Do ponto de vista das doenças articulares degenerativas, o componente mais importante da articulação são as cartilagens articulares (CARON, 2011). A cartilagem articular do animal adulto é, em geral, do tipo hialina, avascular e aneural, e possui uma matriz extracelular (MEC), composta por colágeno, proteoglicanos (PGs), glicoproteínas e água, e células chamadas de condrócitos (MCILWRAITH, 2005; REECE & ROWE, 2017). Histologicamente, são visíveis quatro zonas na cartilagem articular (Figura 7), chamadas de zona superficial ou tangencial, zona intermediária ou de transição, zona radiada e zona calcificada (MCILWRAITH, 2011; 2006). A cartilagem articular é responsável pela dissipação de cargas da articulação, deslizando entre si sem atrito, mesmo quando expostas a cargas maiores (CARON, 2011). Na OA, há perdas em qualidade e quantidade dos principais componentes da MEC, incluindo colágeno e PGs, afetando as propriedades mecânicas da cartilagem de forma a impedir sua função e diminuir sua capacidade de suportar cargas normais (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

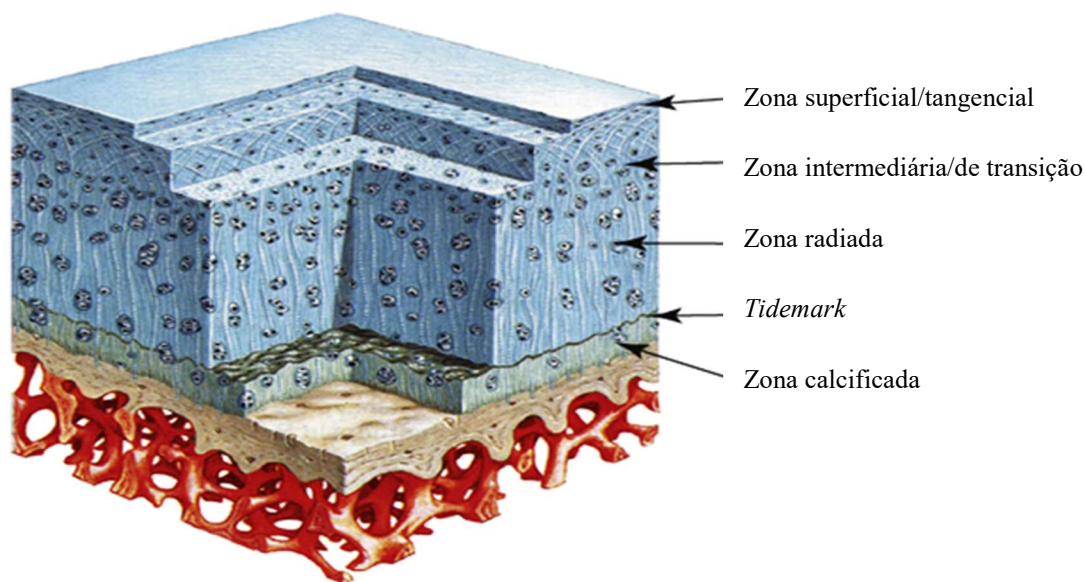


Figura 7. Desenho esquemático da cartilagem articular. Fonte: Van Weeren, 2016.

O colágeno corresponde a 50% do peso seco da MEC (VAN WEEREN, 2016) e são diferentes daqueles encontrados em outras estruturas do corpo. O colágeno presente nesse tecido, serve como suporte estrutural à cartilagem articular, além de interagir com os outros elementos da matriz, contribuindo para arquitetura e função. O colágeno do tipo II, produzido

pelos condrócitos, é o mais abundante na cartilagem articular, representando cerca de 90% a 95% de todo o colágeno do tecido. Além do colágeno tipo II, outros tipos estão presentes, embora em menor quantidade (tipos VI, IX, XI, XII e XIV). O colágeno tipo II é um dos componentes perdidos com a ocorrência dos processos catabólicos durante a OA (MCILWRAITH, 2005; 2011; CARON, 2011; FRISBIE & JOHNSON, 2019).

Os espaços entre as fibras de colágeno são ocupados por PGs, os quais fazem parte juntamente com o colágeno, dos principais componentes sólidos da MEC. Os PGs formam um grupo de moléculas constituídos por componentes proteicos e glicosaminoglicanos (GAGs) (MCILWRAITH, 2011; CARON, 2011). O maior número de PGs (85%) formam agregados através da sua ligação com o ácido hialurônico (HA), denominados de *aggrecan*. Os principais agregados são o sulfato de condroitina-6 e o sulfato de queratan. (MCILWRAITH, 2005, 2006). Além dos *aggrecan*, existem vários PGs presentes na MEC, menores em tamanho e fração, os quais fazem parte da família de pequenas proteínas ricas em leucina. As cadeias de GAGs são carregadas negativamente e ligam-se com facilidade às moléculas de água, o que é responsável pela rigidez compressiva da cartilagem e capacidade de dissipar a carga na qual está sujeita. Assim como o colágeno, os PGs são uns dos componentes principais da MEC que são digeridos durante o processo osteoartrítico (CARON, 2011).

As glicoproteínas que integram uma pequena parte da cartilagem articular, cerca 10% do peso seco (MCILWRAITH, 2005; WEEREN, 2016), incluem as proteínas de ligação condronectina, fibronectina, proteína da matriz oligomérica da cartilagem (COMP), trombospondina e anchorina C-II, e o fator de crescimento originado da cartilagem; ambos estão envolvidos nas atividades da matriz e dos condrócitos (MCILWRAITH, 2011; CARON, 2011). Evidências sugerem que as fibronectinas contribuam para a degradação de *aggrecan* em processos osteoartríticos, por meio das citocinas catabólicas (MCILWRAITH, 2002).

Os condrócitos são responsáveis pela produção da MEC como também pela síntese de algumas enzimas proteolíticas que participam da degeneração da matriz extracelular (CARON, 2011). Os condrócitos articulares são responsáveis por manter a homeostase das articulações normais através de uma interação complexa entre mediadores anabólicos e catabólicos e estímulos mecânicos (FRISBIE & JOHNSON, 2019). Em cada fase de crescimento e maturação, a proporção da produção e degradação da matriz são reguladas para alcançar o equilíbrio, crescimento líquido e remodelação da mesma. Essa interação entre condrócitos e a MEC se dá pela existência de um cílio de cada condrócito que alcança a matriz e funciona como uma sonda, identificando alterações na matriz, como por exemplo a perda de colágeno e PGs,

retransmitindo esta informação para a célula (MCILWRAITH, 2011; VAN WEEREN, 2016). Na OA, com a interrupção deste estado homeostático, há um desequilíbrio articular que resulta na predominância dos processos catabólicos, ocasionando destruição em quantidade e qualidade dos principais componentes da MEC, o que provocará fibrilação na superfície articular e um aumento no teor de água na articulação. Por sua vez, o processo degenerativo afetará as forças mecânicas naturais da cartilagem, deixando-a menos capaz de suportar cargas normais (CARON, 2011; FRISBIE & JONHSON, 2019).

3.1.2. Osso subcondral

Abaixo da cartilagem articular está o osso subcondral que se conecta à cartilagem através da zona calcificada. Sua estrutura consiste em um osso cortical paralelo à superfície da articulação e um osso trabecular abaixo desta. O osso subcondral serve como amortecedor protegendo a cartilagem das forças axiais, além promover o suprimento metabólico necessário para as zonas cartilaginosas mais profundas. Diferentemente da cartilagem articular avascular, o osso subcondral é abundantemente vascularizado, possui grande atividade metabólica e uma alta taxa de renovação tecidual (LIEBICH et al., 2016; VAN WEEREN, 2016).

No estágio inicial da OA há uma severa perda na espessura e um aumento na porosidade da placa subcondral. À medida em que a doença progride, o osso subcondral torna-se esclerótico seguido de um aumento na densidade óssea. (PASTOUREAU; CHOMEL; BONNET, 1999; SNIKERS et al., 2008). Modificações estruturais na cartilagem ou osso, como ocorre na AO, altera a natureza das propriedades mecânicas o que leva a uma resposta fisiológica diferente (MAHJOUR; BERENBAUM; HOUARD, 2012). Em humanos com OA, o remodelamento e o enrijecimento do osso subcondral é considerado prejudicial à função articular (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

3.1.3. Cápsula articular e membrana sinovial

As alterações que ocorrem na OA não afetam apenas a cartilagem articular e o osso subcondral, afetam toda a articulação, incluindo cápsula, membrana sinovial, ligamentos e tecidos periarticulares (MCILWRAITH, 2016; FRISBIE & JOHNSON, 2019).

A cápsula articular constitui-se de duas partes: a cápsula externa fibrosa, que é a continuação do periósteo e a membrana sinovial interna (LIEBICH et al., 2016). A camada fibrosa composta por tecido conjuntivo denso, principalmente de colágeno tipo I, contribui para a estabilização mecânica à articulação juntamente com os ligamentos articulares e as unidades

musculotendíneas (MCILWRAITH, 2006). A maioria das terminações nervosas se localizam na camada fibrosa o que justifica a dor sentida quando ocorre um dano na mesma, ou pelo estiramento da cápsula devido ao edema que ocorre na região. Devido à irrigação sanguínea nessa camada ser limitada, as lesões exigem uma prolongada recuperação (LIEBICH et al., 2016).

A membrana sinovial também conhecida por sinóvia, cobre toda a superfície articular, exceto a cartilagem articular e zonas específicas do osso. Histologicamente, é composta por duas camadas: a íntima e a subíntima. A parte celular da íntima é responsável pela fagocitose, produção de proteínas e consequentemente pela produção do líquido sinovial. A íntima é composta pelos sinoviócitos, os quais são classificados pela ultraestrutura em sinoviócitos do tipo A, B e C. As células do tipo A lembram os macrófagos, os quais participam da fagocitose e as do tipo B são responsáveis pela produção de proteína. As células do tipo C parecem ser intermediárias entre as formas celulares A e B. A função fagocítica compreende a eliminação de partículas indesejadas que podem ser retiradas da articulação. Já a secreção de proteínas contribui para a composição e regulação da produção do líquido sinovial, incluindo ácido hialurônico (HA), colágeno, lubrificina, prometaloproteinases da matriz, interleucinas e eicosanóides, importantes para o equilíbrio da membrana sinovial. (MCILWRAITH, 2006; CARON, 2011; FRISBIE & JOHNSON, 2019). A subíntima contém os capilares, cujo endotélio influencia a formação do líquido sinovial e se associa às alterações inflamatórias sistêmicas e locais (FRISBIE & JOHNSON, 2019)

A produção do líquido sinovial faz parte da atividade normal da articulação, porém, quando ocorrem lesões, esse processo se altera levando a uma sinovite e capsulite, induzindo a liberação, por exemplo, de prostaglandinas e metaloproteinases (MMPs) as quais contribuem para o desenvolvimento da doença articular degenerativa (MCILWRAITH, 2011; 2016FRISBIE & JOHNSON, 2019).

3.1.4. Líquido sinovial

Descrito como um ultrafiltrado do plasma, o líquido sinovial tem sua composição formada através da seleção de alguns componentes do plasma pelo endotélio da subíntima, mais especificamente moléculas inferiores a 10kDa, como glicose, oxigênio, proteínas e dióxido de carbono. A lubrina e o HA completam a composição do líquido sinovial por ação dos sinoviócitos, sendo responsável pela viscosidade do líquido sinovial (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

O líquido é descrito como um fluido amarelo claro e viscoso, cujas funções incluem a lubrificação e nutrição da cartilagem articular com troca de nutrientes e resíduos metabólicos. A viscosidade reduzida do líquido sinovial, identificada em cavalos com OA, é atribuída à despolimerização do HA no líquido sinovial. A qualidade do HA é observada pela avaliação grosseira do líquido sinovial durante a artrocentese (CARON 2011; LIEBICH et al., 2016).

3.2. OSTEOARTRITE (OA)

Atualmente, vários termos são usados para descrever a OA, sendo que os mais comuns definem a OA como uma doença articular degenerativa e/ou osteoartrose. O primeiro não é conceituado como termo científico, enquanto o segundo, que não enfatiza o componente inflamatório, é utilizado para caracterizar a condição crônica. Osteoartropatia também é um termo que pode ser empregado para definir em geral qualquer doença dos ossos e articulações. (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

A OA em cavalos é um conjunto de distúrbios articulares caracterizados por uma degeneração da cartilagem articular, acompanhado de alterações nas estruturas ósseas e tecidos moles envolventes da articulação (MCILWRAITH, 2005), conforme ilustrados na Figura 8.

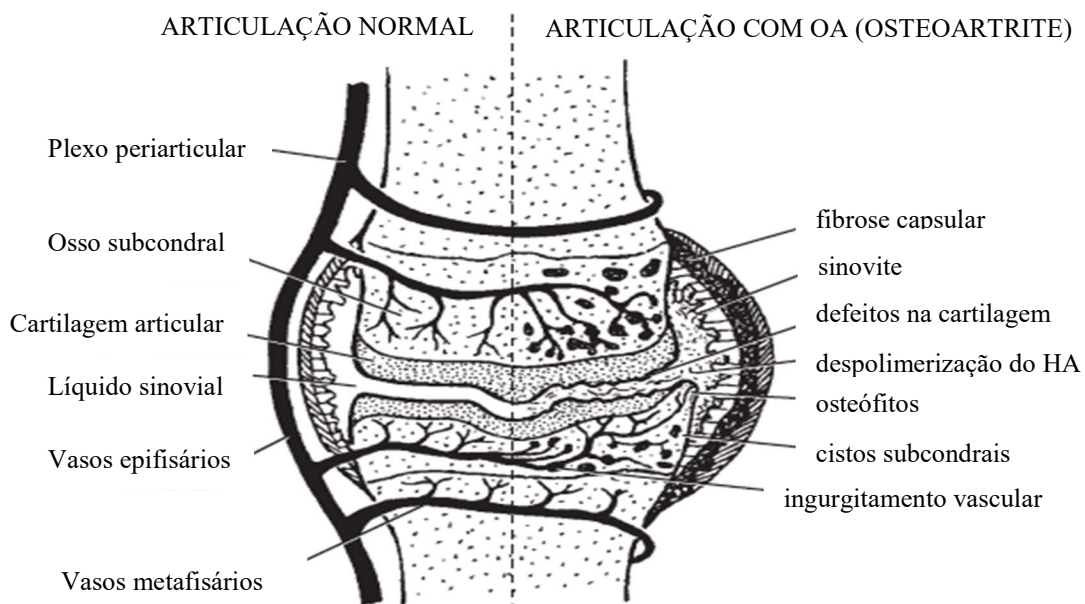


Figura 8. Desenho de uma articulação normal, à esquerda, e com OA (osteoartrite) à direita. HA: ácido hialurônico. Fonte: Frisbie & Johnson, 2019.

3.2.1. Etiopatogenia

A etiopatogenia da OA envolve vários fatores descritos por diferentes teorias. A teoria mais popular baseia-se no conceito de que a cartilagem articular é exposta a forças anormais, levando a alterações articulares cumulativas. Uma segunda hipótese descreve anormalidades no osso subcondral. Embora não relatada ainda no cavalo, há considerações de que a cartilagem defeituosa possui alterações nas suas propriedades biomecânicas e falha nas respostas às cargas normais (CARON, 2011). Em 1966, a *American Association of Equine Practitioners* (AAEP) tornou o “trauma decorrente de uso” um conceito etiológico central na OA equina. Atualmente o trauma repetido é provavelmente o fator etiológico mais comum na OA de equinos, principalmente em cavalos atletas (MCILWRAITH, 2016, CARON, 2011). No entanto, um único episódio traumático pode originar a OA (KIDD et al., 2001).

Os condrócitos e sinoviócitos são células críticas para o processo da OA por sintetizarem citocinas e enzimas proteolíticas, que atuam no processo de degeneração da cartilagem articular (FRISBIE & JOHNSON, 2019). Os mediadores inflamatórios de maior importância na OA em equinos são as MMPs, agreganases, radicais livres de oxigênio, prostaglandinas e citocinas, destacando-se a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (MCILWRAITH, 2011).

As principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas na patogênese da OA incluem a IL-1, o TNF- α e a prostaglandina E₂ (PGE₂). Tanto a IL-1 quanto o TNF- α modulam a síntese e secreção das principais enzimas catabólicas envolvidas na destruição extracelular da matriz, as metaloproteinases (MMPs). São elas: colagenase 1 (MMP-1), colagenase 2 (MMP-8) e colagenase 3 (MMP-13), estromelina 1 (MMP-3), e as gelatinases MMP-2 e MMP-9, de PGE₂ e de radicais livres de oxigênio. Acredita-se que a IL-1, especificamente a IL-1 β seja a mais importante dentre as citocinas pró-inflamatórias na OA. Essa interação permite uma regulação negativa da síntese e destruição dos principais componentes da MEC, principalmente colágeno tipo II e *agrecans*. Atualmente, presume-se que a IL-1 seja a responsável pelo processo de degradação da cartilagem articular enquanto o TNF α esteja relacionado à morbidade e dor clínica. A destruição do tecido cartilaginoso leva à dor e perda de função da articulação (SUTTON et al., 2009; MCILWRAITH, 2006, 2011, 2016; CARON, 2011; FRISBIE & JOHNSON, 2019).

3.2.2. Diagnóstico

A suspeitada de OA ocorre com os sinais clínicos de claudicação e é diagnosticada por exames complementares. Os sinais clínicos são derivados da inflamação articular, notada como dor à flexão e efusão articular. Em casos avançados, a claudicação pode ser grave e há um aumento da rigidez da articulação. O exame físico ortopédico e os bloqueios perineurais ou articulares são essenciais para auxiliar a localização da dor na OA (MCILWRAITH, 2011).

Exames radiográficos e ultrassonográficos (US), tomografias computadorizadas (TC), ressonância magnética (RM), cintilografia e artroscopia, são os exames de imagem atualmente disponíveis para diagnosticar a OA (BERTONE, 2011; VALDÉZ-MARTÍNEZ & STYEN, 2011; MCILWRAITH, 2011; BUTLER, 2017; PEASE & NELSON, 2019; NELSON & PEASE, 2019). O exame radiográfico continua sendo o meio diagnóstico de maior disponibilidade e uso para avaliar lesões músculo-esqueléticas. As anormalidades radiológicas normalmente observadas num quadro de OA são osteófitos periarticulares, radiopacidade aumentada com zonas radiolucidas mal definidas e perda do padrão trabecular no osso subcondral, lesões ósseas do tipo cisto ósseo, diminuição do espaço articular, distensão da cápsula articular e edema dos tecidos periarticulares (BUTLER, 2017).

O exame do líquido sinovial, por meio da artrocentese, é também um procedimento realizado para avaliar condições artríticas. O exame analisa a proteína sinovial, contagem de leucócitos e outras características observadas em processos inflamatórios. O nível proteico de 2g/dL e a contagem de leucócitos sendo menor do que 1.000cél/mm³ com uma porcentagem de 10% de neutrófilos e 90% de células mononucleares e linfócitos, são considerados valores normais no líquido sinovial de equinos. Valores proteicos totais aumentados, acima de 2,5g/dL, indicam inflamação articular. Da mesma forma, a contagem de leucócitos pode chegar a valores próximos ou maiores que 2.000 células/mm³ com 75% de células polimorfonucleares em processos inflamatórios. Em artrites infecciosas este número pode chegar a 50.000/mm³. Marcadores bioquímicos e imunológicos são outros meios utilizados para identificar e quantificar os produtos da degradação cartilaginosa no líquido sinovial. Esse método é importante para determinar o estágio da OA e na determinação da eficácia dos agentes terapêuticos utilizados (LATIMER et al., 2000; SUGIUCHI et al., 2005; MCILWRAITH, 2006).

3.2.3. Tratamento

O tratamento da OA inclui repouso, fisioterapia, ataduras, ferraduras, medicamentos intra-articular e sistêmicos. Entre os medicamentos mais usados para tratar a OA, estão os AINES e corticoides, com o objetivo de reduzir a dor e a inflamação. Terapias biológicas também estão sendo cada vez mais utilizadas para tratamento intra-articular da OA (BERTONE, 2011).

3.2.3.1. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES)

Os AINES são analgésicos e anti-inflamatórios mais usados em terapias medicamentosas para a OA há décadas. Os AINES, por meio da cascata do ácido araquidônico, bloqueiam a conversão da enzima cicloxigenase (COX), especificamente a COX-1 e COX-2, em PGE₂ e tromboxanos, fundamentais para o desenvolvimento do processo inflamatório (BOONE, 2013; FRISBIE & JOHNSON, 2019). O AINE mais comumente usado em lesões muscoesqueléticas em equinos é a fenilbultazona (não seletivo para COX), sendo considerado um dos AINES mais potentes para efeitos modificadores dos sintomas e bastante utilizado devido a sua eficácia, disponibilidade e acessibilidade (MCILWRAITH & FRISBIE, 2016). Outros AINES utilizados na doença articular incluem a flunixin meglumina, o cetoprofeno, o carprofeno e o meloxicam. O firocoxib, um integrante da classe dos seletivos para COX-2 está sendo recomendado e usado para controlar inflamações associadas à OA para uso a longo prazo, pelo fato da exposição prolongada de AINES não seletivos para a COX causarem efeitos colaterais renais e gastrointestinais no animal (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

3.2.3.2. Corticosteroides

Os glicocorticoides são agentes anti-inflamatórios potentes e muito usados no tratamento da OA crônica. Sua ação anti-inflamatória resume-se na inibição do metabolismo do ácido araquidônico, inibindo as enzimas fosfolipase A-2 e COX-2, estabilizando as membranas lisossômicas celulares, reduzindo a permeabilidade vascular e a migração de leucócitos. Os corticoides limitam a produção das citocinas pró-inflamatórias, principalmente da IL-1 e do TNF- α , e de integrantes que contribuem para a progressão das lesões osteoartríticas, sendo assim considerados medicamentos modificadores da doença. A inibição da síntese de prostaglandina, contribui em larga medida, para o alívio da dor (GOODRICH, 2011; MCILWRAITH, 2016). Os corticoides intra-articulares mais utilizados na prática equina

são o acetato de metilprednisolona, acetonido de triacinaolona e o acetato de betametasona (FRISBIE & JONHSON, 2019). Devido as suas ações anti-inflamatórias e condroprotetoras, a triacinaolona é preferencialmente usada para articulações de alto movimento (GOODRICH & NIXON, 2006; MCILWRAITH & LATTERMANN, 2019). Efeitos deletérios após a administração de metilprednisolona foram demonstrados na cartilagem articular de equinos *in vitro* e *in vivo* (FUBINI; TODHUNTER; BURTON-WUSTER, 2001; MURRAY et al., 2002). Por esse motivo, a metilprednisolona é utilizada em articulações de baixo movimento e/ou em articulações com OA crônica, grave e que não respondem a outros corticoides intra-articulares (BOONE, 2013). A administração intra-articular de corticoides em doses altas e exposição prolongada pode resultar em efeitos deletérios à cartilagem (GOODRICH, 2011).

3.2.3.3. Ácido hialurônico (HA)

O HA é um elemento normal do líquido sinovial da articulação. A administração intra-articular do HA exógeno modula a síntese do próprio HA de alto peso molecular pelos sinoviócitos, proporcionando melhor viscoelasticidade ao líquido sinovial, e possui atividades anti-inflamatórias leves que contribuem para a melhora de dor e função articular do paciente (BOONE, 2013; KIKER-HEAD & FEDER, 2014; FRISBIE & JOHNSON, 2019;). Na medicina humana, o HA é considerado um medicamento osteoartrítico modificador de sintomas; no entanto, na medicina equina, ainda faltam evidências consistentes para esta aplicação (FRISBIE, 2016). Até mesmo evidências que favoreçam o apoio à ação condroprotetora em articulações lesadas são contraditórias, em função dos poucos efeitos benéficos comprovados no reparo da cartilagem em relatos com o uso intra-articular do HA (MEDELSON et al., 2004; JANSEN et al., 2008;).

3.2.3.4. Terapias biológicas

3.2.3.4.1. Soro autólogo condicionado

O Soro autólogo condicionado é um hemoderivado enriquecido com proteínas antagonistas da IL-1, comercializado sob nomes de Irap® e Irap II® para uso veterinário. Resumidamente, o antagonista da IL-1 liga-se aos receptores da citocina pró-inflamatória IL-1, impedindo seu efeito no desenvolvimento da cascata inflamatória, a qual resultaria em destruição progressiva da cartilagem, particularmente na OA (VENDRUSCULO et al., 2014). O soro autólogo condicionado é recomendado quando o uso de corticoide não mostra mais

efeitos favoráveis. Seu efeito benéfico tem sido demonstrado por períodos de três meses a um ano, em articulações equinas que não responderam a tratamentos com outras terapias intra-articulares. O soro autólogo condicionado difere das outras terapias biológicas que buscam reparar ou regenerar o tecido (GOODRICH, 2011; TEXTOR, 2011; VENDRUSCULO et al., 2014).

3.2.3.4.2. *Plasma rico em plaquetas (PRP)*

O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma fração derivada do sangue contendo quantidades variáveis de plaquetas, fatores de crescimento, leucócitos e glóbulos vermelhos (MCCARREL et al., 2014). A princípio, o PRP foi utilizado em cirurgias orais e maxilofaciais, e começou então a ser utilizado amplamente em ossos, feridas, tendões e ligamentos. Acredita-se que o uso de PRP nesses tecidos favoreça o processo de coagulação e cicatrização de feridas, estimulando a regeneração de tecidos pela liberação dos seus diversos fatores (MARX, 2001; OLIVA et al., 2005; SAMPSON; GERHARDT; MANDELBAUM, 2008; MCCARREL et al., 2014; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019).

Já bastante utilizado no tratamento de tecidos moles, o PRP tem ganhado espaço no tratamento de doenças articulares. Na OA, os fatores de crescimento integrados no PRP podem auxiliar no reparo tecidual da cartilagem, evitando a progressão da doença (KON et al., 2010; TEXTOR & TABLIN, 2013; MCCARREL et al., 2014). Em equinos com OA, estudos demonstraram que o PRP reduziu o grau de claudicação e induziu melhoras nos aspectos histopatológicos e histoquímicos da cartilagem (YAMADA et al., 2012; MIRZA et al., 2016).

3.2.3.4.3. *Estanozolol*

O estanozolol é um derivado sintético da testosterona, usado como agente *doping* e anabolizante sistêmico em equinos. Foi recentemente inserido em protocolos terapêuticos, para uso intra-articular em casos de OA em animais (SPADARI et al., 2013; CASTRO MARTINS et al., 2018). O estanozolol possui propriedades anabólicas e androgênicas pela sua ligação com receptores androgênicos e glicocorticoides (SPADARI et al., 2015). Estudos mostraram efeitos benéficos da atuação do medicamento nos elementos que compõe a estrutura da cartilagem em diferentes animais. Em alguns estudos, o estanozolol induziu à proliferação e secreção dos componentes fundamentais da MEC, que resulta na estimulação do tecido cartilaginoso (SALERI; DONDI; BIANCHI, 2004; ZHU et al., 2011). Os estudos em cavalos com OA apresentaram evidências da atuação do medicamento na redução dos sinais

inflamatórios (SPADARI et al., 2013; SPADARI et al., 2015; RINNOVATI et al., 2015; CASTRO MARTINS et al., 2018). A capacidade dos efeitos clínicos do estanozolol e o seu potencial em realizar o reparo da cartilagem ainda precisam ser mais amplamente avaliados (FRISBIE & JOHNSON, 2019).

3.2.3.4.4. *Células tronco mesenquimais (CTMs)*

Acredita-se que as CTMs exerçam seus efeitos terapêuticos por vários mecanismos. Na OA, mais do que a habilidade de se diferenciarem em outros tipos de células, são de interesse sua capacidade de se abrigar nos locais inflamados após lesão e de liberar múltiplas moléculas bioativas capazes de estimular a recuperação de células lesionadas, eliminar a inflamação e exercer funções imunomoduladoras (SHARMA et al., 2014).

De modo geral, as CT são divididas em duas classes: embrionárias e adultas (SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019). As CT adultas conhecidas também como células-tronco somáticas, são multipotentes pela capacidade de diferenciação e auto-renovação em alguns tecidos (SOUZA et al., 2010; FRISBIE, 2016; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019). As CT adultas estão presentes na medula óssea, tecido adiposo, sangue periférico, cordão umbilical, polpa dentária, músculo esquelético, epitélio, córnea, medula espinhal e órgãos como o pâncreas, fígado e encéfalo (ZAGO & COVAS, 2006). Dentre as CT adultas, estão as células tronco hematopoiéticas e as CTMs. As CT hematopoiéticas originam as células sanguíneas e as do sistema imunológico. Já as CTMs representam uma população de células progenitoras multipotentes, que apresentam maior plasticidade e originam-se de tecidos mesodermis (FREITAS, 2005; ARAÚJO, 2005; NARDI, 2007; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019).

As CTMs são derivadas do estroma, o qual é constituído de tecido conjuntivo (mesenquimatoso), sendo assim conhecidas por células estromais mesenquimais. Após as CTMs serem isoladas e descritas por Friedenstein em meados de 1960, estudos demonstraram que essas células possuíam potencial osteogênico e adipogênico. O termo CTMs foi então adotado em 1991 na literatura por Arnold Caplan (SPENCER et al., 2010; YARAK & OKAMOTO, 2010; MAO et al., 2015).

As CTMs são as células de maior interesse na ortopedia por possuírem o potencial de se diferenciar em linhagens celulares ósseas, cartilaginosas, músculo-tendíneas e de outros tecidos conjuntivos (BRUDER et al., 1998; FRISBIE, 2016). Dentre os requisitos para determinação e caracterização das CTMs de equinos adultos estão a morfologia celular, a adesão ao plástico quando mantida em condições de cultura, a diferenciação em três tipos de

linhagens (adipócitos, osteoblastos e condroblastos) e a expressão do marcador de superfície celular (VIDAL et al., 2006; GIOVANNINI et al., 2008; RANERA et al., 2011). Dentre os marcadores que as CTMs devem expressar, a *International Society for Cellular Therapy* destaca o CD73, CD90 e CD105, quando não estiverem expressos os marcadores da linhagem hematopoiética (c-kit, CD14, CD11b, CD34, CD45, CD19, CD79 α e MHC II) (HORWITZ et al., 2005; DOMINICI et al., 2006). Marcadores utilizados para a imunofenotipagem dessas células ainda não foram desenvolvidos para a espécie equina. Para esta espécie, um critério mínimo estabelecido é a expressão dos marcadores CD29, CD44 e CD90 e a não expressão dos marcadores CD14, CD79a MHC II (; DE SCHAUWER et al., 2011).

4. O USO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS COMO TERAPIA REGENERATIVA NA OSTEOARTRITE EQUINA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA QUALITATIVA

4.1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, a preocupação com a ocorrência de lesões articulares em equinos, principalmente àquelas de alto movimento e fundamentais para o deslocamento desses animais, motiva pesquisas com terapias que aumentem o sucesso de recuperação dessas articulações.

A área da terapia gênica tem ganhado atenção científica pelo seu potencial terapêutico nas diferentes doenças degenerativas e inflamatórias. Embora os mecanismos pelos quais as células tronco mesenquimais (CTMs) exercem seu potencial terapêutico no reparo tecidual não estejam todos elucidados, seu efeito reparador envolve o tropismo por locais lesionados e sua capacidade de secretar fatores solúveis que modulam a resposta imune e influenciam células endógenas a promover o reparo dos tecidos (BERNARDO; PAGLIARA; LOCATELLI, 2011; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019; BROECKX et al., 2014; LOPEZ & JARAZO, 2014; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019). Considerando que os fatores que as CTMs liberam no meio em situações específicas têm efeito imunomodulador e indutor de regeneração, pesquisas têm buscado reparar efetivamente a cartilagem articular com o uso de CTMs. Alguns dos estudos realizados *in vivo* com articulações de equinos com osteoartrite (OA) apresentam resultados promissores, enquanto outros não observaram melhora significativa nos parâmetros avaliados. Heterogeneidade de resultados nestes estudos não é incomum, tendo em vista a variabilidade de fatores relacionados ao tecido lesionado, características do tratamento com CTMs e métodos de avaliação. Outro fator limitante dos estudos *in vivo* com CTMs em articulações de equinos é o alcance de um número adequado de animais com características homogêneas de causalidade e estado lesional para obtenção de poder de teste com a distribuição nos grupos controles (ORTVED & NIXON, 2016; ANDIA & MAFFULLI, 2017; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019;).

Na busca por evidências científicas do efeito reparador das CTMs em equinos com OA, realizou-se uma revisão sistemática qualitativa de estudos que utilizaram CTMs autólogas ou alogênicas, administradas intra-articular, colhidas de diferentes tecidos de equinos, em modelos osteoartrosícticos *in vivo* induzidos experimentalmente ou de ocorrência natural.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento bibliográfico foi realizado em fevereiro de 2020 com artigos publicados entre os anos de 2007 e 2020, fazendo uso das bases de dados *Pubmed* e *Science Direct*, utilizando o operador booleano (AND, OR) entre as seguintes palavras-chave: *horse stem cell*, *stem cells horse arthritis*, *stem cells horse osteoarthritis*, *stem cells horse autologous alogeneic*, *mesenchymal stem cell horse*, *bone marrow-derived mesenchymal stromall cell osteoarthritis horse*. A pesquisa bibliográfica apontou 34.208 artigos, somando todas as combinações entre as palavras-chave, com repetições de estudos nas diferentes buscas (Tabela 2).

Tabela 3. Quantidade de trabalhos obtidos pela busca no *Pubmed* e *Science Direct* para cada termo utilizado na pesquisa.

Termos de pesquisa	Pubmed	Science Direct	Total
<i>Bone marrow-derived mesenchymal stromall cell osteoarthritis horse</i>	18	273	291
<i>Horse stem cell</i>	1.105	23.905	25.010
<i>Mesenchymal stem cell horse</i>	545	3.841	4.386
<i>Mesenchymal stem cell lameness</i>	52	690	742
<i>Stem cell horse autologous alogeneic</i>	37	2	39
<i>Stem cell horse arthritis</i>	30	2.568	2.598
<i>Stem cell horse osteoarthritis</i>	54	1.088	1.142
Total	1.841	32.367	34.208

Após a busca, iniciou-se a primeira triagem dos resultados onde os artigos foram acessados e avaliados perante título, resumo e informações pertinentes ao tema principal. A inclusão dos estudos neste trabalho baseou-se nos critérios destes usarem e avaliarem o efeito de CTMs equinas: autólogas ou alogênicas; derivadas de sangue, medula, tecido adiposo ou cordão umbilical, aplicadas intra-articular para tratamento de lesões *in vivo* associadas à OA induzida ou adquirida. Foram também incluídos os estudos com CTMs em combinação com PRP e com comparação à fração vascular estromal (FVE) derivada do tecido adiposo. Excluiu-se os estudos *in vitro*, os com CTMs utilizadas em articulação saudáveis, os que administram CTMs por via intravenosa e os que utilizaram CTMs de outras espécies.

Com base nos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 39 artigos na primeira triagem. Após a leitura completa do texto, houve a eliminação de mais 24 trabalhos, restando apenas 15 estudos (Figura 12) para análise e inclusão nos resultados e discussão.

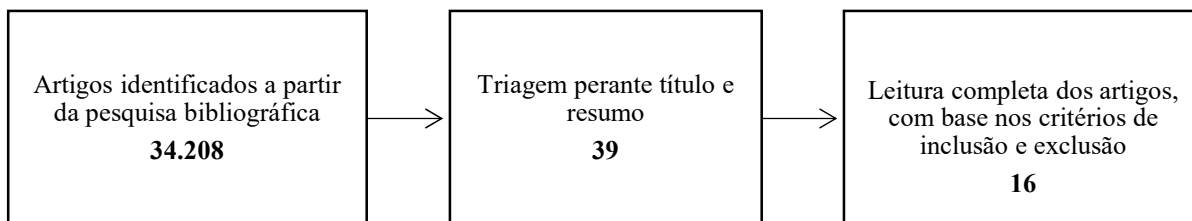


Figura 9. Organograma da seleção dos artigos para a revisão sistemática qualitativa sobre o efeito de células-tronco mesenquimais (CTMs) em osteoartrites (OA) de equinos.

Os artigos selecionados para análise e discussão dos dados consistiram de oito estudos randomizados duplo-cego, cego ou apenas randomizado (sendo três multicêntricos) de placebo-controle ou não; seis não randomizados (sendo três placebo-controle, um estudo piloto, um preliminar e uma série prospectiva de casos), e um estudo de laboratório controlado.

Ao separar os estudos em suas subcategorias, o número pequeno de animais nos subgrupos experimentais e as diferenças de avaliações entre eles, inviabilizou a execução de meta-análise dos resultados.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Características amostrais e analíticas dos estudos *in vivo*

Considerando o somatório dos estudos incluídos, foram avaliados o efeito da administração de CTMs em 493 animais com OA, 14 com sinovite e 18 com artrite. Ao incluir-se os grupos controle, o número de animais totaliza 525.

Os estudos avaliados variaram em relação à origem das CTMs, quantidade de células, uso de terapias adjuvantes, número de aplicações e tipo de OA (induzida ou de ocorrência natural). Os parâmetros utilizados para determinar os efeitos das CTMs na OA de equinos, consistiram de observação de aspectos clínicos articulares e grau de claudicação (13/15); análise citológica e bioquímica do líquido sinovial baseando-se na contagem de células nucleadas, contagem diferencial de células, concentração de proteína total e mediadores químicos de inflamação (PGE₂ e TNF α) (8/15); avaliação das características macroscópicas, histológicas, bioquímicas e imuno-histoquímicas da cartilagem articular e membrana sinovial (6/15); exames

de imagem (US, RM, exame radiográfico e artroscopia) (14/15), e detecção de efeitos colaterais.

4.3.2. Efeito das Células Tronco Mesenquimais (CTMs)

A maioria dos trabalhos (14/15 trabalhos; 420/428 animais tratados) apresentaram resultados positivos nos diferentes parâmetros avaliados quanto à recuperação dos animais com OA.

4.3.2.1. Origem tecidual

As células-tronco derivadas da medula óssea (BMSCs – *bone marrow stromal cells*) foram as fontes mais utilizadas nos estudos (7/15), seguido pelas do sangue periférico (PBSC – *peripheral blood stem cells*) (4/15), tecido adiposo (ADSCs – *adipose-derived stem cells*) (2/15) e cordão umbilical (UCSC – *umbilicall cord stem cells*) (2/15).

A maioria dos trabalhos que usaram BMSCs (4/7) (MCILWRAITH et al., 2011; FERRIS et al., 2014; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018), demonstraram melhoras benéficas na maioria dos parâmetros avaliados (aproximadamente 54/84 animais). Dos demais estudos que utilizaram BMSCs, dois não observaram resultados consistentes e um não obteve melhoria nos resultados (aproximadamente 22/84 animais), sendo estes estudos com as menores amostras e com OA induzidas (WILKE et al., 2007; FRISBIE et al., 2009; COLBATH et al., 2019b). Usando PBSC, os quatro estudos (BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019a; 2019b) conseguiram demonstrar melhoras clínicas significativas na maioria dos animais em que receberam a terapia (aproximadamente 178/266 animais). De forma similar, os quatro estudos com ADSCs e UCSC também obtiveram resultados benéficos significativos em animais tratados com a terapia gênica (34/44 e 19/34, respectivamente) (WILLAMS et al., 2015; MARINÑAS-PARDO et al., 2018; MAGRI et al., 2019; DELCO et al., 2020).

Para a escolha da origem tecidual das CTMs, são levados em consideração fatores relacionados ao processo de colheita e preparo (invasividade do método, quantidade obtida e velocidade e potencial de expansão) e as características desejáveis das células em relação ao objetivo de sua aplicação (plasticidade). A medula óssea é tradicionalmente a fonte principal para isolamento de CTMs em mamíferos (IM et al., 2005). Entretanto, o procedimento de doação é altamente invasivo e o número de CTMs e seu potencial de diferenciação diminuem em animais mais velhos (KERN et al., 2006). As células do tecido adiposo em comparação às BMSCs, são facilmente acessíveis e seu isolamento geram grandes quantidades de CTMs. A

colheita, entretanto, é ainda um pouco invasiva (CARRADE et al., 2011; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019; KLAR, 2017). Como o sangue é mais facilmente acessível, o sangue periférico possui esta vantagem como fonte de CTMs, embora os níveis de células sejam mais baixos em comparação aos da medula óssea (JÚNIOR, 2009; LOFTY et al., 2019; KUZNETSOV et al., 2001).

O sangue do cordão umbilical e tecidos placentários equinos podem ser facilmente colhidos por um método pouco invasivo, com segurança e sem danos à égua e aos potros (SCHUH et al., 2009; BARTHOLOMEW et al., 2009; KERN et al., 2006). Além disso, os tecidos e sangue umbilicais podem conter uma grande quantidade de células com maior plasticidade e grande potencial de expansão do que outros tecidos adultos (GUCCIARDO et al., 2008). Fontes como o sangue periférico, que tenham facilidade de colheita, mas baixos números de CTMs, podem ser diretamente utilizadas em combinação com outros fatores. Foi o caso dos estudos que utilizaram baixos níveis de CTMs em combinação com PRP, aumentando o número de plaquetas com o intuito de ampliar a expressão de fatores indutores de reparo tecidual (85 a 200 milhões) (BROECKX et al. 2014a, 2014b, 2019a, 2019b). Esta facilidade de obtenção a partir do sangue periférico facilita a colheita de células de outros animais que podem estar em melhores condições, ou servirem de fonte para um banco de células, sem ter que passar por procedimentos invasivos apenas para o fornecimento de CTMs.

Outros estudos comparando o número e os potenciais de expansão e plasticidade entre CTMs de diferentes tecidos, têm relatado que o número de CTMs do tecido adiposo, tendão e tecidos do cordão umbilical foram 222 vezes superiores aos obtidos da medula óssea ou sangue do cordão umbilical. Em relação ao potencial de expansão, as ADSCs e as dos tecidos tendinosos expandiram mais rápido que as BMSCs. Considerando o potencial de diferenciação, observaram que as BMSCs apresentam potencial osteogênico mais proeminente que UCSC e similar às ADSCs. Já os níveis de diferenciação condrogênica das BMSCs foram menores que os da UCSCs, mas maiores que os das ADSCs (BURK et al., 2013; VIDAL et al., 2007).

A superioridade entre uma fonte sob a outra são bastantes discutidas pois a medula óssea, o tecido adiposo e sangue e tecido umbilicais apresentam vantagens diferentes e podem impactar sua aplicação terapêutica. Ainda que as BMSCs foram as mais utilizadas em termos de quantidade de estudos dentre os analisados neste trabalho, a facilidade de obtenção de células-tronco no sangue periférico, pode ter sido determinante no acesso de maior número de animais com OA de ocorrência natural ao tratamento com CTMs (mais de 200) (BROECKX et al. 2014a, 2014b, 2019b).

4.3.2.2. Quantidade de células tronco mesenquimais (CTMs) e número e intervalo de aplicações

Outro aspecto de variabilidade entre os estudos foi a quantidade de células utilizadas nos experimentos, que foram de 2 milhões a 25 milhões, tendo uma média aritmética de 11,4 milhões e a mediana de 10 milhões (15 trabalhos). A seleção do número de células nos estudos baseou-se, em sua maioria, na literatura, que relata que doses de células superiores a 5 milhões foram relacionadas a resultados positivos enquanto o número de células entre 30 a 60 milhões estavam associadas a ocorrência de possíveis reações (MCLLWRAITH et al., 2011).

Mesmo o estudo com doses menores (BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019a; 2019b) obteve resultados favoráveis como o uso de CTMs em cavalos com OA. No entanto, este utilizou PRP no tratamento intra-articular.

O número de aplicações variou entre uma única aplicação (11/15) e duas aplicações em um intervalo de duas a cinco semanas (3/15). Nos três estudos com mais de uma aplicação, o número de células por aplicação foi de 10 milhões (2/3 estudos) e 25 milhões (1/3 estudos). Houve um único estudo que comparou a administração única (14/28 animais) *versus* repetida (14/28 animais) em equinos (duas aplicações com doses de 10 milhões em um intervalo de um mês) (MAGRI et al., 2019). Este estudo que comparou a administração única *versus* a repetida teve resultados positivos com a aplicação de CTMs, mas não observou diferenças significativas nos benefícios clínicos da administração repetida em comparação a uma única injeção. Dois estudos (BARRACHINA et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018) mostraram resultados benéficos da ação das CTMs com aplicações repetidas (40/50 animais). Ainda assim, um dos trabalhos demonstrou resultados mais consistentes com doses repetidas de 25 milhões, incluindo melhoras clínicas, citológicas, histológicas e bioquímicas (BARRACHINA et al., 2018), do que o estudo utilizando aplicações de 10 milhões (MARIÑAS-PARDO et al., 2018), embora este último avaliou somente o grau de claudicação. Em um dos estudos utilizando doses repetidas de 10 milhões de CTMs alogênicas e autólogas, os animais não demonstraram melhoras clínicas e citológicas (8/8 animais) (COLBATH et al., 2019b).

Em relação às reações imunomediadas, nenhum dos estudos com mais de 10 milhões de CTMs e repetidas aplicações, sejam de células alógenas ou autógenas, relataram reações adversas significativas (BARRACHINA et al., 2018; FERRIS et al., 2014; DELCO et al., 2020; MCLLWRAITH et al., 2011, MARIÑAS-PARDO et al., 2018). Corroborando com estes, estudos em articulações saudáveis de equinos, foram utilizadas doses entre 10 a 25 milhões de CTMs (alogênicas ou autólogas), e constatou-se que a maioria dos animais não desenvolveu reações adversas graves ou não apresentou reação alguma (PIGOTT et al., 2013a, 2013b ;

ARDANAZ et al. 2016; JOSWING et al., 2017; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; COLBATH et al., 2019a;). Já outro trabalho observou que CTMs alogênicas equinas administradas por via intradérmica em doses de 30 a 50 milhões são capazes de induzir respostas de anticorpos humorais *in vivo* (PEZZANITE et al., 2015).

Em cães, doses baixas (5 milhões) não induziram sinais clínicos inflamatórios, enquanto o transplante de 66 milhões resultou em dor e claudicação (PARK et al., 2013). Doses mais baixas também provaram ser eficazes na melhoria das propriedades funcionais em ligamentos colaterais de equinos (SAETHER et al., 2014). Assim como estudos com outras espécies (camundongos e suínos) que demonstraram que injeções repetidas de CTMs potencializam suas ações benéficas em diferentes modelos de enfermidades e vias de administração (VAN VELTHOVEN et al., 2010; HATSUSHIKA et al., 2014), doses mais baixas, de forma repetida, ou associada a outras terapias biológicas, podem ser uma forma significativa de aumentar a eficácia e diminuir o risco de reações adversas com o uso de CTMs em casos osteoartíticos.

4.3.2.3. Autólogas *versus* alogênicas

Dos 15 trabalhos selecionados, 11 usaram CTMs alogênicas, três utilizaram CTMs autólogas e apenas um estudo comparou CTMs alogênicas e autólogas. O transplante autólogo é realizado com CTMs que provém do próprio indivíduo que receberá a terapia gênica, já o transplante alogênico utiliza CTMs de outro indivíduo (doador) da mesma espécie em pacientes que receberá a terapia (receptor).

Usando CTMs alogênicas, os 11 estudos conseguiram mostrar resultados clínicos, citológicos, histológicos e bioquímicos estatisticamente favoráveis nos grupos de animais que receberam a terapia gênica (aproximadamente 275/396 animais) (BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019a; 2019b; FERRIS et al., 2014; WILLIAMS et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; MAGRI et al., 2019; DELCO et al., 2020). A maioria dos estudos com CTMs autólogas (2/3) obteve resultados insuficientes quando comparado aos outros estudos. Estes detectaram melhora na resposta cicatricial precoce e na redução de PGE₂; no entanto, nas avaliações clínicas, bioquímicas e histológicas, não foram observadas diferenças significativas (14/24 animais) (WILKE et al., 2007; FRISBIE et al., 2009). Um estudo obteve resultado mais consistente, apresentando aumento da resistência do tecido reparado e maiores níveis de *agreccan* na maioria dos animais (10/24 animais – na cartilagem articular (MCILWRAITH et al., 2011). O estudo que comparou

as CTMs alogênicas e autólogas não demonstrou melhoras com CTMs ou diferenças estatísticas entre os tratamentos autólogos e alogênicos (COLBATH et al., 2019b).

A expansão de CTMs autólogas possuem limitações por serem bastante trabalhosas e necessitarem de um tempo maior para serem cultivadas (cerca de 3 semanas). Isso prejudica pacientes que necessitam de tratamento imediato e os resultados são mais incertos sobre a qualidade das células colhidas. No caso de CTMs de medula óssea, há também o risco individual da colheita (MCILWRAITH et al., 2011; ARDANAZ et al., 2016; COLBATH et al., 2019a, 2019c). Diferentemente das células autólogas, as CTMs alogênicas possuem vantagem por serem terapias prontamente disponíveis para tratamento imediato, conhecidas como “terapias pronto-para-uso” que podem ser colhidas de animais jovens e saudáveis, caracterizadas e selecionadas de acordo com suas propriedades terapêuticas. O menor tempo de expansão *ex vivo* das CTMs alogênicas as tornam uma possibilidade clínica e comercialmente atrativa para o tratamento das afecções musculoesqueléticas (ARDANAZ et al., 2016; COLBATH et al., 2019a, 2019c).

Nos últimos dez anos, houve uma crescente discussão sobre a segurança e eficácia do uso de CTMs alogênicas em doenças osteomusculares (COLBATH et al., 2019c). Embora as vantagens sobre o uso de CTMs alogênicas sejam claras, especulações relacionadas a expressão do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC – *major histocompatibility complex*) expressos pelas CTMs têm levantado preocupações (SCHNABEL et al., 2014; BERGLUND & SCHNABEL, 2017). A expressão de MHC-II em sua superfície pode levar ao reconhecimento imunológico e, dessa forma, resultar em uma reação imune a células alogênicas (SCHNABEL et al., 2014; SCHNABEL; BOONE; PERONI, 2019). No entanto, há discussões sobre o nível de expressão do MHC-II pelas CTMs. Estudos com CTMs da medula óssea e sangue umbilical relataram uma falta de MHC-II expresso nas CTMs de equinos (GUEST; OUSEY; SMITH, 2008; SCHNABEL et al., 2014; BARBERINI et al., 2014; MUNDY et al., 2015; COLBATH et al., 2019a). Assim, os baixos níveis de expressão do MHC-II em sua superfície e os mecanismos imunossupressores característicos podem justificar em parte a falta de evidências clínicas e de respostas imunes que podem ser causadas pelas CTMs alogênicas (BARBERINI et al., 2014; CARRADE et al., 2014; TESSIER et al., 2015; COLBATH et al., 2019a). O fato dos estudos com células alogênicas, avaliando diferentes parâmetros, terem, de uma forma geral, demonstrado melhoras significativas com o uso de CTMs, ao passo que os estudos com células autólogas falharam, pode ser em parte explicado pelo maior número de animais nos grupos e o efeito ter sido realizado em OA natural em boa parte dos estudos com

CTMs alogênicas. Enquanto o máximo de animais utilizados num único experimento com CTMs autólogas foi de 10 animais por grupo, houveram estudos com CTMs alógenas com 72, 150 e 165 animais tratados por experimento, sem contar os dos grupos controle e de outros tratamentos (MARIÑAS-PARDO et al.; 2018; BROECKX et al., 2019b, 2014b). Outro ponto a ser considerado é que boa parte dos estudos com CTMs alógenas (5/11), incluindo os três supracitados, utilizaram OA de ocorrência natural, enquanto todos os grupos que utilizaram células autólogas, incluindo o que buscou comparar autóloga contra alogênicas, utilizaram OA artificialmente induzidas. Assim, este número menor de amostra e modelo experimental utilizado para avaliar o efeito das células autólogas pode ter criado um viés para ausência de efeito benéfico na OA e em comparação às alógenas. Ainda, o estudo que comparou as duas, não teve grupo controle e os animais foram avaliados por apenas duas semanas (COLBATH et al., 2019b).

4.3.2.4. Uso de terapias adjuvantes

Alguns dos estudos observaram que as PBSC alogênicas induzidas por substâncias condrogênicas (estas usadas para criar um meio de indução condrogênico e assim estimular a condrogênese) combinadas com PRP alogênico, foram eficazes contra os sinais e reações inflamatórias causadas pela OA (BROECKX et al. 2014a, 2014b, 2019a, 2019b). Os estudos analisados observaram melhoras significativas clínicas gerais e baixos efeitos adversos. Um desses trabalhos obteve, além da melhora clínica, recuperação nas características do fluido sinovial, redução na severidade das linhas de desgaste e aumento na quantidade de GAGs, COMP e colágeno tipo II. (BROECKX et al. 2019a).

A cartilagem danificada pode não fornecer um ambiente adequado para ocorrer a diferenciação das CTMs e influenciar negativamente sua viabilidade, prejudicando a indução condrogênica (BROECKX et al., 2014a). O PRP serve como um suporte biológico por oferecer uma gama de fatores de crescimento (fator de crescimento derivado de plaquetas –PDGF; fator de crescimento transformador beta - TGF- β ; fator de crescimento semelhante à insulina-1 - IGF-1; fator de crescimento epidérmico – EGF; fator de crescimento endotelial vascular – EGF), e substâncias de adesão tecidual (fibrina, fibronectina e vitronectina) que são naturalmente utilizados pelo próprio organismo durante o reparo tecidual e aumentam em concentração de células no local da lesão. Diante disso, o PRP serve como um arcabouço para promover a migração de CTMs em lesões muscoesqueléticas (BOONE, 2013; CREEPER & IVANOVSKI, 2011). Além disso, estudos confirmam que o PRP aumenta a proliferação de

CTMs e causa diferenciação condrogênica *in vitro* (MISHRA et al., 2009). O PRP também pode ser usado como meio de cultura celular, trocando substâncias xenogênicas que são atualmente utilizadas em meios de cultura para expansão das CTMs, diminuindo os riscos e aumentando a segurança das aplicações de CTMs (COPLAND & GALIPEAU, 2011). Os estudos deste trabalho defendem que o uso combinado entre esses produtos biológicos, podem produzir efeitos benéficos necessários para promover um melhor reparo biológico do tecido, trazendo benefício ao tratamento. Um dos estudos comparou o potencial das CTMs e PRP isoladamente, combinados entre si (PRP + CTMs) e CTMs com PRP e indução por substâncias condrogênicas. Foi observado melhoras significativas na funcionalidade e sustentabilidade das articulações tratadas com PRP e CTMs associadas, independentemente da indução por condrogênicos (BROECKX et al., 2014a).

4.3.2.5. Lesões adquiridas naturalmente e induzidas experimentalmente

Dos 15 estudos analisados, nove utilizaram OA induzida (WILKE et al., 2007; FERRIS et al., 2009; MCILWRAITH et al., 2011; WILLIAMS et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; COLBATH et al., 2019b; DELCO et al., 2020) e seis OA de ocorrência natural (BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019b). No estudo prospectivo (FERRIS et al., 2014), além de abordar lesões em cartilagens, também utilizou-se animais com lesões em meniscos e em ligamentos.

Os seis estudos que utilizaram OA de ocorrência natural obtiveram melhoras nos parâmetros clínicos relacionados à inflamação (aproximadamente 236/357 animais) (BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019b; FERRIS et al., 2014; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; MAGRI et al., 2019). Os sinais clínicos inflamatórios avaliados consistiram de a avaliação articular (palpação, respostas aos testes de flexão, inchaço, calor e avaliação da efusão) e do grau de claudicação. Estes estudos não realizaram exames da composição/histologia da cartilagem ou cápsula articular e nem do líquido sinovial.

Os que usaram OA induzidas experimentalmente como modelo tiveram resultados diversificados. Houve melhoras dos sinais clínicos inflamatórios, melhoras histológicas, citológicas e bioquímicas entre os trabalhos (6/9 estudos; aproximadamente 49/71 animais) (MCILWRAITH et al., 2011; WILLIAMS et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; DELCO et al., 2020). Os outros estudos não demonstraram resultados expressivos na maioria dos parâmetros avaliados ou não

demonstraram melhorias (3/9 estudos; aproximadamente 22/71 animais) (WILKE et al., 2007; FRISBIE et al., 2009; COLBATH et al., 2019b).

Como modelo experimental, os estudos com OA induzidas usaram fragmentos osteocondrais (4/9), artrites e sinovites induzidas por substâncias químicas e biológicas (3/9) (artrite induzida por injeção intra-articular de anfotericina B e sinovites induzidas por interleucina 1 beta – IL-1B e lipolissacarídeo - LPS) e lesões na cartilagem articular (2/9). Os modelos de AO induzidas por substâncias químicas são utilizados para imitar o processo da doença em diversas espécies, incluindo o cavalo. A injeção intra-articular de anfotericina B induz um modelo de artrite aguda no cavalo produzindo inflamação e exercendo um papel importante no início e na progressão das alterações degenerativas da cartilagem. Entretanto, o modelo de anfotericina-B não reproduz a AO pós-traumática (PTOA), a qual é a patogênese mais comum da doença (SUOMINEN et al., 1999; MARTTINEN et al., 2006; MOKBEL et al., 2011; BARRACHINA et al., 2018). O modelo de sinovite induzida por LPS possui curta duração (24-48h) e, nesse caso, o LPS não imita todas as fases da OA. Ainda assim, o LPS é útil para a avaliação das CTMs na inflamação aguda (PALMER & BERTONE, 1994; WILLIAMS et al., 2015;). Os resultados em estudos que utilizam modelos induzidos experimentalmente podem variar daqueles que utilizam a OA de ocorrência natural por esta apresentar variabilidade nos estágios da doença, na velocidade de progressão e na resposta de inata de cada paciente (BROECKX et al., 2019a).

O efeito principal das CTMs na OA pode estar relacionado à imunomodulação e conseqüentemente às atividades anti-inflamatórias. Assim, a escolha do modelo de lesão torna-se uma questão importante para estudar o efeito terapêutico das CTMs (BARRACHINA et al., 2018). As OA causadas por fragmentos osteocondrais levam à claudicação e à queda de desempenho dos animais. Essa doença é frequentemente tratada com intervenção cirúrgica, por meio da remoção dos fragmentos, e administração de AINES (MCILWRAITH; FRISBIE; KAWCAK, 2012). Embora os fragmentos osteocondrais sejam retirados, a inflamação das articulações pode persistir. Diante disso, o tratamento cirúrgico combinado com as CTMs pode melhorar a clínica do paciente (KORCHUNJIT et al. 2018).

4.3.3. Avaliações

4.3.3.1. Avaliação dos sinais inflamatórios (avaliação articular e grau de claudicação)

A análise da inflamação articular consistiu da avaliação da temperatura local subjetiva (calor à palpação), presença de efusão sinovial, dor à palpação e medição da amplitude de

movimento e circunferência articular (11/15). O grau de claudicação foi estimado de acordo com a escala de pontuação para claudicação da AAEP (13/15) e por uma ferramenta de medição objetiva, em forma de localizador de claudicação (3/13). Os trabalhos avaliaram a articulação e o grau de claudicação durante todo o período de estudo, divergindo apenas no intervalo de avaliação, variando na duração entre horas, semanas e meses de acordo com o estudo (FRISBIE et al., 2009; MCILWRAITH et al., 2011; WILLIAMS et al., 2015; WILKE et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; 2014a; 2014b; 2019b; COLBATH et al., 2019b; MAGRI et al., 2019). Três estudos não utilizaram o exame de claudicação como método avaliativo (BROECKX et al., 2019^a; MAGRI et al., 2019; COLBATH et al., 2020).

Dos estudos com animais com OA induzida experimentalmente e de ocorrência natural (incluindo lesões associadas a essas) tratados com CTMs autólogas e alogênicas que avaliaram os sinais clínicos inflamatórios pela avaliação articular e o grau de claudicação (totalizando 13 de 15 estudos analisados), cerca de 69,23% (9/13) obtiveram melhoras dos sinais clínicos inflamatórios demonstrados pelos animais (aproximadamente 261/414 animais) (FERRIS et al., 2014; BROECKX et al., 2014a; 2014b; 2019a; 2019b; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; MAGRI et al., 2019). Outros não observaram melhora dos sinais inflamatórios e/ou não apresentaram diferenças significativas 30,77% (4/13 estudos – aproximadamente 32/414 animais) (FRISBIE et al. 2009; MCILWRAITH et al., 2011; WILLIAMS et al., 2015; COLBATH et al., 2019b).

Os trabalhos que tiveram resultados positivos com CTMs apresentaram melhora nos escores de claudicação (6/9), diminuição na efusão articular (4/9) e diminuição da dor em resposta à flexão (3/9) (FERRIS et al., 2014; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; 2014a; 2014b; 2019b; MAGRI et al., 2019). Dois estudos (2/9) (OA de ocorrência natural e induzida) observaram que o grupo de tratamento com CTMs pareceu se recuperar mais rápido da claudicação em comparação ao placebo (diferenças encontradas após 60 dias de tratamento nos dois estudos). Em um desses dois trabalhos, além do grau de claudicação, a resposta à dor e à flexão no grupo de tratamento com CTMs pareceu diminuir mais rápido do que no grupo de tratamento convencional (após 30 dias de tratamento) (KORCHUNJIT et al., 2018; MARIÑAS-PARDO et al., 2018).

Poucos estudos (2/9) (BROECKX et al., 2014b; FERRIS et al., 2014) avaliaram o resultado do efeito das CTMs no retorno ao trabalho dos animais. Um dos estudos utilizou

combinações de CTMs induzidas por substâncias condrogênicas ou não induzidas, com PRP, acompanhando o resultado a longo de 18 meses (BROECKX et al., 2014b). Neste estudo, considerado piloto, 78% dos animais com CTMs nativas (não induzidas por substâncias) e 86% dos que receberam CTMs induzidas por substâncias condrogênicas retornaram ao trabalho (BROECKX et al., 2014b). Já no outro estudo, uma série prospectiva de casos, 43% dos cavalos retornaram ao nível anterior de trabalho, 33% retornaram ao trabalho e 24% não retornaram ao trabalho, somando um total de retorno ao trabalho (76%) parecido aos níveis do estudo de Broeckx et al. (2014b) (FERRIS et al., 2014). Em um dos estudos (BROECKX et al., 2014a), os parâmetros foram classificados em um sistema de pontuação clínica determinado pelo autor. Esses parâmetros foram somados e considerados como escore geral de gravidade clínica. Diante disso, os escores de gravidade clínica foram traduzidos para escores de evolução para facilitar a interpretação dos dados. O estudo obteve os maiores escores de evolução com o tratamento combinado de CTMs com PRP induzidas por condrogênicos ou não, em comparação aos grupos em que usaram isoladamente CTMs e PRP. Não houve grupos controle.

Os estudos que não conseguiram apresentar melhoras dos sinais clínicos inflamatórios com o uso de CTMs, não obtiveram diferenças estatísticas na redução do grau de claudicação (3/4), dor à flexão (2/4), efusão articular (3/4) e circunferência articular (2/4) (FRISBIE et al., 2009; MCILWRAITH et al., 2011; WILLIAMS et al., 2015; COLBATH et al., 2019b).

O processo agudo é caracterizado por dor, efusão, diminuição da amplitude de movimento e aumento da circunferência articular. Em casos agudos, a dor é iniciada quando estímulos térmicos, químicos e mecânicos ativam fibras aferentes periféricas, e é evidenciada pela claudicação e pela resposta positiva à flexão da articulação (HALL et al., 2001; MCILWRAITH, 2006). O grau de claudicação precisa ser registrado em uma abordagem objetiva utilizando um sistema de classificação. O AAEP, sistema de classificação de claudicação de referência, é recomendado por vários autores e estabelece que um mesmo veterinário avalie o animal da mesma maneira (BAXTER & STASHAK, 2011). Embora o sistema localizador de claudicação tenha demonstrado uma melhor repetibilidade inter-observadora, quando comparado ao exame subjetivo de claudicação, este deixa de fora diferentes padrões cinemáticos. Assim, o sistema objetivo é recomendado como aditivo à avaliação clínica, colaborando para resultados mais precisos (KEEGAN, 2007; KEEGAN et al. 2013; 2011). Avaliar a eficácia e o potencial das CTMs, principalmente alogênicas, em modelos experimentais e naturais de inflamação, pode levar a resultados pouco comparáveis, pois as

características imunomodulatórias das CTMs podem agir e serem estimuladas de formas variadas em ambientes inflamatórios diferentes.

4.3.3.2. Avaliação citológica e bioquímica do líquido sinovial

A avaliação citológica e bioquímica do líquido sinovial consistiu em geral, da contagem de células nucleadas, contagem diferencial de células, concentração de proteína total, e mediadores químicos de inflamação (PGE_2 e $TNF\alpha$) (8/15). Os trabalhos avaliaram o líquido sinovial variando de acordo com a duração do estudo entre um intervalo de horas, dias, semanas e meses.

De oito estudos que avaliaram a citologia, três observaram redução significativa no número de leucócitos (neutrófilos e células mononucleadas) no líquido sinovial de animais tratados com CTMs (25 animais totais) (WILLIAMS et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018). Entretanto, cinco estudos não apresentaram diferenças significativas na contagem de células nucleadas e na contagem diferencial de células (36 animais) (WILKE et al., 2007; FRISBIE et al., 2009; BROECKX et al., 2019a; COLBATH et al., 2019b; DELCO et al., 2020).

Dos estudos que fizeram avaliação bioquímica (8/15), um trabalho notou valores de proteína total significativamente reduzidos no final do estudo com CTMs (14 animais) (BARRACHINA et al., 2018) e o restante das pesquisas não apresentou diferenças significativas na concentração de proteína total entre os tratamentos (7/8) (86 animais) (WILKE et al., 2007; FRISBIE et al., 2009; WILLIAMS et al., 2015; KORCHUNJIT et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; COLBATH et al., 2019b; DELCO et al., 2020). A maioria (6/8) não observou diferença estatística na concentração dos mediadores químicos inflamatórios (PGE_2 e $TNF\alpha$) no líquido sinovial de equinos tratados e não-tratados com CTMs (74 animais) (WILKE et al., 2007; WILLIAMS et al., 2015; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; COLBATH et al., 2019b;). Dos dois estudos que observaram diferenças bioquímicas, o grupo tratado com CTMs autólogas apresentou diminuição da concentração de PGE_2 (8 animais) (FRISBIE et al., 2009) e o grupo tratado com CTMs alogênicas teve um aumento da concentração do eicosanoide (8 animais) (DELCO et al., 2020), ambos em comparação ao grupo controle negativo.

Embora não constatada na maioria dos estudos, a diminuição de PGE_2 e da contagem de neutrófilos e células mononucleares após a administração de CTMs apoia o conceito de que as CTMs detém potencial terapêutico na inflamação das articulações. Já o aumento da PGE_2

pode estar associado ao efeito imunomodulador causados pelas CTMs selecionadas para a alta expressão de superfície da subunidade integrina $\alpha 10^{\text{high}}$, a qual foi utilizada no estudo. Este é um marcador fenotípico e importante receptor de colágeno tipo II (CAMPER; HELLMAN; LUNDGREN-AKERLUND, 1998; VARAS et al., 2007) que auxilia as CTMs no melhoramento das propriedades imunomoduladoras segundo Uvebrandt et al. (2019). A função imunomoduladora é atribuída em especial à secreção de PGE_2 , dependente de IL-6, por inibir a produção dos mediadores inflamatórios (TNF- α , INF- γ e MMPs). As CTMs deficientes em IL-6, usadas em um modelo de artrite, não foram capazes de reduzir os sinais clínicos do processo agudo (NAUTA & FIBBE, 2007; BOUFFI et al., 2010; LEE et al., 2016). Outra hipótese sugerida para o aumento de PGE_2 seria o uso das CTMs alogênicas, onde estas podem ser mais imunogênicas comparadas às autólogas. Pigott et al. (2013), relatam aumento de até 25% dos sinais inflamatórios com uso de BMSCs alogênicas comparadas às autólogas.

4.3.3.3. Avaliação de imagem

Os exames de imagem utilizados consistiram de exames radiográficos (7/15) (FRISBIE et al., 2009; MCILWRAITH et al., 2011; BARRACHINA et al., 2018; KORCHUNJIT et al., 2018; BROECKX et al., 2019a; DELCO et al., 2020; MAGRI et al., 2019) e de ressonância magnética (RM) (3/15) (BARRACHINA et al., 2018; DELCO et al., 2020; MCILWRAITH et al., 2011) usados para avaliar a formação de osteófitos, entesófitos, proliferação óssea e sinovial, lise óssea subcondral, edema subcondral, tamanho do espaço articular, espessura da cartilagem, quantidade de tecido de reparo e opacidade do defeito; de artroscopia (3/15) (WILKE et al., 2007; MCILWRAITH et al., 2011; DELCO et al., 2020)), utilizado para avaliar a firmeza do tecido, bem como o grau de reparo tecidual, e o exame ultrassonográfico (1/15) para examinar a integridade da cartilagem e do ambiente articular (BARRACHINA et al., 2018).

Em cinco trabalhos (5/7), incluindo os três que usaram RM, as imagens radiográficas e de RM não demonstraram diferenças significativas entre os grupos com CTMs em comparação aos controles ou grupos de comparações entre produtos (BROECKX et al., 2019a; BARRACHINA et al., 2018; MAGRI et al., 2019; MCILWRAITH et al., 2011; FRISBIE et al., 2009). Dois trabalhos observaram melhoras nas anormalidades radiológicas. Um trabalho sugeriu diminuição da formação de osteófitos no grupo tratado (KORCHUNJIT et al., 2018). Outro observou menos esclerose óssea subcondral nos animais tratados em comparação ao grupo controle (8 animais) (DELCO et al., 2020).

Em dois de três trabalhos, as avaliações artroscópicas demonstraram melhoras. Em um, foi detectado firmeza significativa do tecido reparado com escore 2,2, sendo 0 classificado como ruim e 4 excelente (MCILWRAITH et al., 2011). No estudo de Wilke et al. (2007) foi observado resposta cicatricial precoce no grupo tratado (WILKE et al., 2007). Em outro estudo, não houve diferenças significativas (DELCO et al., 2020). Em um estudo de caso, avaliado ao longo de 15 meses, a aplicação repetida, de três injeções de 10 e 2 milhões de CTMs autólogas mostrou ter eficácia na redução da profundidade dos defeitos da cartilagem e de melhora moderada do ligamento cruzado cranial com suavização das irregularidades da superfície e firmeza na palpação, observados através de avaliações artroscópicas, em um equino com fissuras na cartilagem de ocorrência natural. A recuperação foi considerada adequada com o animal retornando ao esporte (RAHEJA et al., 2011).

O estudo em que utilizou a ultrassonografia para avaliar o ambiente articular, observou efusão sinovial reduzida no grupo de tratamento com CTMs (BARRACHINA et al., 2018).

4.3.3.4. Avaliação *post-mortem*

Seis trabalhos, todos com lesões induzidas, avaliaram as características macroscópicas, histológicas, bioquímicas e imuno-histoquímicas da membrana sinovial e cartilagem articular *post-mortem*, buscando analisar a morfologia e a composição bioquímica dos tecidos sinoviais a curto e longo prazo.

Nas avaliações conjuntas macroscópicas, os estudos observaram um aumento significativo na firmeza do tecido reparador (10 animais) (MCILWRAITH et al., 2011), menos fibrilação da cartilagem articular (8 animais) (DELCO et al., 2020), bem como uma melhor aparência geral da cartilagem (14 animais) (BARRACHINA et al., 2018).

Quatro estudos que avaliaram as características sob o efeito das CTMs a longo prazo (6 a 12 meses) demonstraram melhoras na histologia, incluindo menor esclerose óssea subcondral (DELCO et al., 2020), melhor resposta de cura inicial do tecido cartilaginoso (WILKE et al., 2007) e diminuição da inflamação sinovial nos grupos de animais tratados (BARRACHINA et al., 2018). Na imuno-histoquímica, os estudos revelaram progressão tardia da perda de PGs (BARRACHINA et al., 2018) e níveis maiores de *agrecann* nos grupos tratados com CTMs (MCILWRAITH et al., 2011).

Dois estudos avaliaram os efeitos das CTMs a curto prazo (6 semanas e 2 meses \pm 5 dias). Um dos estudos obteve menor hiperemia sinovial, menores linhas de desgaste na avaliação macroscópica e uma maior quantidade de COMP, colágeno tipo II e GAGs no grupo

de intervenção em comparação ao controle, embora, não registrada diferença significativa na histologia (BROECKX et al., 2019a). O outro estudo não observou efeitos das CTMs nas avaliações macroscópicas, histológicas ou bioquímicas da cartilagem e membrana sinovial (FRISBIE et al., 2009).

A evidência de regeneração da cartilagem articular e menisco tem sido descrita em modelos com outras espécies, principalmente a longo prazo, havendo melhoras significativas em parâmetros macroscópicos e histológicos específicos, incluindo cor, rigidez, aspecto da seção sagital, distribuição celular, estrutura óssea subcondral e conteúdo de PGs e colágeno tipo II (MURPHY et al., 2003; LEE et al., 2007; MOKBEL et al., 2011; CARMINAL et al., 2014; MOKBEL et al., 2011;). Além da especulação do efeito imunomodulador das CTMs em secretar fatores solúveis e promover efeitos anti-inflamatórios, evidências no meio científico indicam que os efeitos reparadores das CTMs também estão ligados à secreção de citocinas e quimiocinas anti-inflamatórias, que alteram o ambiente receptor e facilitam a regeneração do tecido (STAGG, 2007; CARRADE et al., 2012; PATERSON et al., 2014).

Considerando essas evidências, a análise a longo prazo das terapias biológicas é necessária para entender a permanência do efeito e o destino das células-tronco injetadas no ambiente articular (MOKBEL et al., 2011).

4.3.3.5. Efeitos colaterais

A maioria dos estudos incluídos nessa análise (14/15) utilizando doses únicas e repetidas, não observaram reações clínicas após a administração de CTMs alogênicas e/ou autólogas no ambiente articular. A exceção foi um estudo, em que um animal teve reação inflamatória grave após a injeção das UCSC, apresentando claudicação, calor local e edema severo. Entretanto, a análise do líquido sinovial foi indicativa de sepse articular (103.000 glóbulos brancos/ μ L com 70% de neutrófilos), na qual os autores sugeriram estar relacionada à quebra de assepsia (MAGRI et al., 2019), embora a alta contagem neutrofílica pudesse também estar relacionada ao número de CTMs injetadas na articulação. Os outros estudos relataram reações leves e autolimitantes (6/15), como calor periarticular leve, inchaço articular e acentuado grau de claudicação após a injeção intra-articular em um curto espaço de tempo, variando de cinco horas a uma semana após aplicação (BROECKX et al., 2014b; FERRIS et al., 2014; WILLIAMS et al., 2015; MARIÑAS-PARDO et al., 2018; BARRACHINA et al., 2018; MAGRI et al., 2019). Os sinais foram melhorados com a administração de AINES, antibióticos e lavagem articular. Alguns animais melhoraram sem tratamento.

Em estudo prospectivo, Ferris et al. (2014) observaram que 10% dos animais desenvolveu inflamação aguda após a injeção intra-articular de 13 milhões de BMSCs autólogas. Em um estudo randomizado multicêntrico duplo-cego e controlado por placebo (BROECKX et al., 2019b), três eventos adversos foram observados em três dos 50 animais tratados com doses de 2 milhões de CTMs alogênicas induzidas por condrogênicos combinadas com 85 milhões de plaquetas. Esses animais foram diagnosticados com infecções leves do trato respiratório superior apresentando secreção nasal. Um desses efeitos adversos foi também observado em um animal do grupo controle.

Alguns estudos que avaliaram os efeitos do uso de BMSCs, ADSCs e CTMs derivadas da placenta (autólogas e alogênicas) com doses repetidas em articulações saudáveis de equinos, relatam que os animais demonstraram reações inflamatórias leves e transitórias com doses entre 10 e 25 milhões de CTMs. Nesses estudos, as reações adversas descritas consistiam em efusão sinovial com ou sem claudicação, temperatura local aumentada e acentuada inflamação sinovial. Os parâmetros clínicos normalizaram espontaneamente dentro de 24 a 48 horas ou 10 dias após a inoculação (CARRADE et al., 2011; ARDANAZ et al., 2016; MARIÑAS-PARDO et al., 2018). Essas observações indicam que há a possibilidade de pequenas reações inflamatórias iniciais na articulação nas horas ou dias após a administração intra-articular. No entanto, a administração de CTMs em equinos com lesões em tecidos moles é considerado como tendo baixa reação adversa (URSINI et al., 2019).

4.4. CONCLUSÃO

Os efeitos imunomodulador e reparador das células tronco mesenquimais aplicadas em equinos com OA foram evidenciados na maioria dos estudos por meio da redução dos sinais clínicos inflamatórios e da melhora histológica e bioquímica articular. Essas evidências foram mais consistentes nos estudos com maior número de animais nos tratamentos e realizados com células tronco mesenquimais derivadas do sangue periférico alógenas combinadas ao plasma rico em plaquetas em OA de ocorrência natural. A variabilidade dos fatores que podem influenciar o efeito das CTMs em OA de equinos e o número insuficiente de animais nos subgrupos destas pesquisas, impossibilitou a execução de uma meta-análise dos resultados apresentados. Possivelmente, estudos mais homogêneos e com um acompanhamento por longos períodos dos animais suscetíveis, antes do aparecimento clínico da lesão e após a terapia gênica, permita avaliações multicêntricas e a obtenção de resultados estatisticamente significativos e reproduzíveis.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante os três meses de estágio, foi possível acompanhar distintas realidades na rotina hospitalar e nos atendimentos a campo, lidando diretamente com os proprietários de animais de grande porte em diferentes situações. As variadas abordagens diagnósticas e terapêuticas, tanto nos casos mais comuns quanto nos mais raros, serviram para que dificuldades fossem superadas e habilidades aprimoradas.

A revisão de literatura sobre OA e a revisão sistemática sobre as células tronco mesenquimais como terapia regenerativa na OA equina permitiram entender melhor sobre o impacto que as doenças articulares causam nesta espécie, perceber a importância de novas terapias que consigam melhorar o reparo articular e seus sinais clínicos e apreciar o estudo científico como ferramenta fundamental para se exercer uma medicina veterinária baseada em evidências.

6. REFERÊNCIAS

A raça Mangalarga Marchador. ABCCMM, 2017. Disponível em www.abccmm.org.br/araca. Acesso em: 13 de março de 2020.

ANDIA I.; MAFFULLI N. Biological Therapies in Regenerative Sports Medicine. **Sports Med**, v. 47, n. 5, p. 807-828, may 2017.

ARAÚJO J. D. A terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores. **J. Vasc. Br.**, v. 4, n. 4, p.357-365, 2005.

ARDANAZ N.; VÁZQUEZ F. J.; ROMERO A.; REMACHA A. R.; BARRACHINA L.; SANZ A.; RANERA B.; VITORIA A.; ALBAREDA J.; PRADES M.; ZARAGOZA P.; MARTÍN-BURRIEL I. E. C. Inflammatory response to the administration of mesenchymal stem cells in an equine experimental model: effect of autologous, and single and repeat doses of pooled allogeneic cells in healthy joints. **BMC Veterinary Research**, v. 65, n. 12, 2016.

BARBERINI D.J.; FREITAS N.P.; MAGNONI M.S.; MAIA L.; LISTONI A. J.; HECKLER M. C.; SUDANO M. J.; GOLIM M. A.; LADIM-ALVARENGA F. D. C.; AMORIM R. M. Equine mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue and umbilical cord: immunophenotypic characterization and differentiation potential. **Stem Cell Res. Ther.** 2014.

BARRACHINA L. REMACHA A. R.; ROMERO A.; VITORIA A.; ALBAREDA J.; PRADES M.; ROCA M.; ZARAGOZA P.; VÁZQUEZ F. J.; RODELLAR C. Assessment of effectiveness and safety of repeat administration of proinflammatory primed allogeneic mesenchymal stem cells in an equine model of chemically induced osteoarthritis. **BMC Veterinary Research**, v. 241, n.14, p. 17, 2018.

BARTHOLOMEW S.; OWENS S.D.; FERRARO G. L.; CARRADE D. D.; LARA D. J.; LIBRACH F. A.; BORJESSON D. L.; GALUPPO L. D. Collection of equine cord blood and placental tissues in 40 thoroughbred mares. **Equine Vet. J.**, v. 41, n. 8, p. 724-728, november 2009.

BAXTER G. M.; STASHAK T. S. Examination for Lameness. *In: Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter.* 6th edition. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. P. 109-205.

BERGLUND A. K. & SCHANABEL L. V. Allogeneic major histocompatibility complex-mismatched equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells are targeted for death by cytotoxic anti-major histocompatibility complex antibodies. **Equine Vet. J.** v. 49, p. 539–544, 2017.

BERNARDO M. E.; PAGLIARA D. E.; LOCATELLI F. Mesenchymal stromal cell therapy: a revolution in Regenerative Medicine? **Bone Marrow Transplantation**, v. 47, n. 2, p., 164–171, 2011.

BERTONE, A.L. The Fetlock. *In: Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter.* 6th edition. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2011. P. 594-620.

BOONE, L. H. Intra-Articular Administration of Allogeneic Equine Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. Dissertação (Graduação em Medicina veterinária) - University of Georgia. Athens, Georgia, p. 223. 2013.

BOUFFI C.; BONY C.; COURTIÉS G.; JORGENSEN C.; NOËL D. IL-6-dependent PGE₂ secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. **PLoS One**, v. 12, n. 5, 2010.

BROECKX S. Y. SULS M.; BEERTS C.; VANDENBERGHE A.; SEYS B.; WUERTZ-KOZAK K.; DUCHATEAU L.; SPAAS J. H. Allogenic Mesenchymal Stem Cells as a Treatment for Equine Degenerative Joint Disease: A Pilot Study. **Current Stem Cell Research & Therapy**, v. 9, n. 6, 2014.

BROECKX S. Y. SEYS B.; SULS M.; VANDENBERGHE A.; MARIEN T.; ADRIAENSEN E.; DECLERCQ J.; VAN HECKE L.; BRAUN G.; HELLMANN K.; SPAAS J. H. Equine Allogeneic Chondrogenic Induced Mesenchymal Stem Cells Are an Effective Treatment for Degenerative Joint Disease in Horses. **Stem Cells Dev.** 2019.

BROECKX S. Y.; MARTENS A. M.; BERTONE A. L.; VAN BRANTEGEM L.; DUCHATEAU L.; VAN HECKE L.; DUMOULIN M.; OOSTERLINCK M.; CHIERS K.; HUSSEIN H.; PILLE F.; SPAAS J. H. The use of equine chondrogenic-induced mesenchymal stem cells as a treatment for osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled proof-of-concept study. **Equine Vet. J.**, v. 51, p. 787-794, 2019.

BROECKX S. Y.; ZIMMERMAN M.; CROCETTI S.; SULS M.; MARIEN T.; FERGUSON S. J.; CHIERS K.; DUCHATEAU L.; FRANCO-OBREGÓN A.; WUERTZ K.; SPAAS J. H. Regenerative Therapies for Equine Degenerative Joint Disease: A Preliminary Study. **PLoS One**, v. 20, n. 1, 2014.

BRUDER S. P.; JAISWAL N.; RICALTON N. S.; MOSCA J. D.; KRAUS K. H.; KADILVA S. Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration. **Clin. Orthop. Relat. Res.** p. 47-56, 1998.

BURK J.; RIBITSCH I.; GITTEL C.; JUELKE H.; KASPER C.; STASZYK C.; BREHM W. Growth and differentiation characteristics of equine mesenchymal stromal cells derived from different sources, **Vet J.** v. 195, n. 1, p. 98-106, 2013.

BUTLER J. A.; COLLES C. M.; DYSON S. J.; KOLD S.E.; POULOS P.W. **Clinical Radiology of the Horse**. 4th edition. Hoboken: Wiley-blackwell, 2017.

CAMINAL M.; FONSECA C.; PERIS D.; MOLL X.; RABANAL R. M.; BARRACHINA J.; CODINA D.; GARCÍA F.; CAIRÓ J. J.; GÓDIA F. PLA A.; VIVES J. Use of a chronic model of articular cartilage and meniscal injury for the assessment of long-term effects after autologous mesenchymal stromal cell treatment in sheep. **New Biotechnology**, v. 31 n. 5, p. 492-498, 2014.

CAMPER L.; HELLMAN U.; LUNDGREN-AKERLUND E. Isolation, cloning, and sequence analysis of the integrin subunit alpha10, a beta1-associated collagen binding integrin expressed on chondrocytes. **J Biol Chem.** v. 273, n. 32, p. 20383-20389, 1998.

CARON J. P.; GENOVESE R. L. Principles and practices of joint disease treatment. *In*: ROSS M.W.; DYSON S. J. eds. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. Philadelphia, PA: Elsevier; 2003.

CARON J.P. Osteoarthritis. *In*: ROSS M. W.; DYSON. S. J. **Diagnosis and Management of Lameness in the Horse**. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. P. 655-668.

CARRADE D. D.; LAME M. W.; KENT M. S.; CLARK K. C.; WALKER N. J.; BORJESSON D. L. Comparative analysis of the immunomodulatory properties of equine adult-derived mesenchymal stem cells. **Cell Med** , v. 4, n.1, p. 1-11, 2012.

CARRADE D.D. OWENS S. D.; GALUPPO L. D.; VIDAL M. A. FERRARO G. L.; LIBRACH F.; BUERCHLER S.; FRIEDMAN M. S.; WALKER N. J.; BORJESSON D. L. Clinicopathologic findings following intra-articular injection of autologous and allogeneic placentially derived equine mesenchymal stem cells in horses. **Cytotherapy**, v. 13, n. 4, p. 419-430, 2011.

CARRADE HOLT D.D.; WOOD, J.A.; GRANICK J.L.; WALKER, N.J.; CLARK, K.C.; BORJESSON, D.L. Equine mesenchymal stem cells inhibit T cell proliferation through different mechanisms depending on tissue source. **Stem Cells Dev**, p. 1258- 1265, 2014.

CASTRO MARTINS M.; PEFFERS M. J.; LEE K.; RUBIO-MARTINEZ L. M. Effects of stanozolol on normal and IL-1 β -stimulated equine chondrocytes in vitro. **BMC Veterinary Research**, v. 2013, n. 14, 2018.

COLBATH A. C.; DOW S. W.; HOPKINS L. S.; PHILLIPS J. N.; MCILWRAITH C. W.; GOODRICH L. R. Allogeneic vs. autologous intra-articular mesenchymal stem cell injection within normal horses: Clinical and cytological comparisons suggest safety. **Equine Vet. J.**, v. 52, n. 1, p. 144-151, 2019.

COLBATH A. C.; DOW S. W.; HOPKINS L. S.; PHILLIPS J. N.; MCILWRAITH C. W.; GOODRICH L. R. Single and repeated intra-articular injections in the tarsocrural joint with allogeneic and autologous equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells are safe, but did not reduce acute inflammation in an experimental interleukin-1 β model of synovitis. **Equine Vet. J.**, 2019.

COLBATH A. C.; DOW S. W.; HOPKINS L. S.; PHILLIPS J. N.; MCILWRAITH C. W.; GOODRICH L. R. Allogeneic vs. autologous intra-articular mesenchymal stem cell injection within normal horses: Clinical and cytological comparisons suggest safety. **Equine Vet. J.**, v. 52, n. 1, p. 144-151, 2020.

COLBATH A. C.; DOW S. W.; MCILWRAITH C. W.; GOODRICH L. R. Mesenchymal stem cells for treatment of musculoskeletal disease in horses: Relative merits of allogeneic versus autologous stem cells. **Equine Vet. J.**, 2019.

COPLAND I. B.; GALIPEAU J. Death and inflammation following somatic cell transplantation. **Seminars in immunopathology**, v. 33, n. 6, p. 535-550, 2011.

CREEPER F.; IVANOVSKI S. Effect of autologous and allogenic platelet-rich plasma on human gingival fibroblast function. **Oral dis.**, v. 18, n. 5, p. 494-500, 2011.

DE SCHAUWER C.; MEYER E.; VAN DE WALLE G.R.; SOON A.V. Markers os stemness in equine mesenchymal stem cells: a plea for uniformity. **Theriogenology**, v.75, n. 8, p.1431-1443, 2011.

DELCO M. L. GOODALE M.; TALTS J. F.; POWNDER S. L.; KOFF M. F.; MILLER A. D.; NIXON B.; BONASSAR L. J.; LUNDGREN-AKERLUND E.; FORTIER L. A. Integrin $\alpha 10\beta 1$ -Selected Mesenchymal Stem Cells Mitigate the Progression of Osteoarthritis in an Equine Talar Impact Model. **Am Journal Sports Med.**, v. 48, n.1, p. 12, 2020.

DOMINICI M.; LeBLANC K.; MUELLER I.; SLAPER-CORTENBACH L.; MARINI F. C.; KRAUSE D. S.; DEANS Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stroma cells. The international society for cellular therapy position statement. **Cytotherapy**, v.8., n. 4, p. 315-317, 2006.

FERRIS D. J. Clinical Outcome After Intra-Articular Administration of Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells in 33 Horses with Stifle Injury. **Vet Surg**, v. 43, n. 3, p. 255-265, 2014.

FREITAS, F. Doação de medula óssea: dúvidas e questões frequentes. 2005. <Disponível em: <http://topazio1950.blogs.sapo.pt/49513.html>.> Acesso em: 27/09/ 2020.

FRISBIE D. D. Hyaluronan *In*: MCLLWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E.; VAN WEEREN P. R. **Joint Disease in the Horse**. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016. P. 215-219.

FRISBIE D. D.; KISIDAY J. D.; KAWCAK C. E.; WERPY N. M.; MCILWRAITH C. W. Evaluation of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction or Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Osteoarthritis. **J Orthop Res**, p. 1675-1680, December 2009.

FRISBIE D.D.; JOHNSON S. A. Synovial Joint Biology and Pathobiology. *In*: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. **Equine Sugery**. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. P. 1342-1348.

FRISBIE D.D.; JOHNSON S. Medical treatment of joint Disease. *In*: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. **Equine Sugery**. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. P. 1348-1363.

FUBINI S. L.; TODHUNTER R. J.; BURTON-WURSTER N.; VERNIER-SINGER M.; MACLEOD J. N. Corticosteroids alter the differentiated phenotype of articular chondrocytes. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, v. 19, n. 4, p. 688-695, 2001.

GIOVANNINI S.; BREHM W.; MAINIL-VARLET P.; NESIC D. Multilineage differentiation potential of equine blood-derived fibroblast-like cells. **Differentiation**, v. 76, n. 2, p. 118-129, 2008.

GOODRICH L. R. Intrasynovial. *In*: **Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter**. 6th edition. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2011. P. 964-970.

GOODRICH L. R.; NIXON A. J. Medical treatment of osteoarthritis in the horse – A review. **Vet J**, v. 171, n. 1, p. 51-69, 2006.

GUCCIARDO, L.; LORIES, R.; OCHSENBEIRI-KÖLBLE, N.; DONE, E.; ZWIJSEN, A.; DEPREST, J. Fetal mesenchymal stem cells: isolation, properties and potential use in perinatology and regenerative medicine. **Int. J. Obstet. Gynaecol.**, v.116, n. 2, p.166-172, 2008.

GUEST D. J.; OUSEY J.C.; SMITH M.R. Defining the expression of marker genes in equine mesenchymal stromal cells. **Stem Cells Cloning**, p. 1-9, 2008.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W.; TRIM, C. M. *Veterinary Anaesthesia*. England: Saunders, 2001, p. 105.

HATSUSSHIKA D.; MUNETA T.; NAKAMURA T.; HORIE M.; KOGA H.; NAKAGAWA Y.; TSUJI K.; HISHIKAWA S.; KOBAYASHI E.; SEKIYA L. Repetitive allogeneic intraarticular injections of synovial mesenchymal stem cells promote meniscus regeneration in a porcine massive meniscus defect model. **Osteoarthritis Cartilage**. v. 22, n. 7, p. 941-950, 2014.

HORWITZ, E. M.; GORDON P. L.; KOO W. K.; MARX J. C.; NEEL M. D.; MCNALL R. Y.; MUUL L.; HOFMANN T. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: implications for cell therapy of bone. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.99, n. 13, p.8932-8937, 2002.

IM, G.I.; SHIN, Y.W.; LEE, K.B. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells? **Osteoarthritis Cartilage**, v.13, n. 10, p.845-853, 2005.

JANSEN E. J.; EMANS P. J.; DOUW C. M.; GULDEMOND N. A.; VAN RHIJN L. W.; BULSTRA S. K.; KUIJER R. One intra-articular injection of hyaluronan prevents cell death and improves cell metabolism in a model of injured articular cartilage in the rabbit. **J Orthop Res**, v. 26, n. 5, p. 624-630, 2008.

JOSWIG A.; MITCHELL A.; CUMMINGS K. J.; LEVINE G. J.; GREGORY C. A.; SMITH R.; WATTS A. E. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model. **Stem Cell Res Ther**. v. 42, n. 8, 2017.

JÚNIOR A. M. Sangue periférico como fonte de células para terapia celular. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**. v.31, n.1, maio 2009.

KEEGAN K. G. Comparison of a body-mounted inertial sensor system-based method with subjective evaluation for detection of lameness in horses. **Am J Vet Res**. v. 74, n. 1, p. 17-24, 2013.

KEEGAN K. G.; KRAMER J.; YONEZAWA Y.; MAIKI H.; PAI P. F.; DENT E. V.; KELLERMAN T. E.; WILSON D. A.; REED S. K. Assessment of repeatability of a wireless, inertial sensor-based lameness evaluation system for horses. **Am J Vet Res** v. 72, n. 9, p. 1156-1163, 2011.

KEEGAN K. G. Evidence-based lameness detection and quantification. **Vet Clin North Am Equine Pract**, v. 23, n. 2, p. 403-423, 2007.

KERN, S.; EICHLER, H.; STOEVE, J.; KLÜTER, H.; BIEBACK, K. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. **Stem Cells**, v.24, n.5, p. 1294–1301, 2006.

KIDD J. A.; FULLER C.; BARR A. R. S. Osteodystrophy in the horse. **Equine Vet Ed**, v. 13, n. 3, p. 160-168, 2001.

KIKER-HEAD C. A.; FELDMANN, H. Pharmacotherapy of joint and tendon diseases. **Equine Sports Med Sug**, p. 403-502, 2014.

KLAR A. S.; ZIMOCZ J.; BIEDERMANN T. Skin Tissue Engineering: Application of Adipose-Derived. Stem Cells. **BioMed Res Int**, 2017.

KON E.; BUDA R.; FILARDO G.; MARTINO A. D.; TIMONCINI A.; CENACCHI A.; FORNASARI P. M.; GIANNINI S.; MARCACCI M. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.** v. 18, n. 4, p. 472-479, 2010.

KORCHUNJIT W.; LAIKUL A.; TAYLOR J.; WATCHARARAT K.; RITRUECHAI P.; SUPOKAWAJ A.; WONGTAWAN T. Characterisation and allogeneic transplantation of equine bone marrow derived multipotent mesenchymal stromal cells collected from cadavers. **J Equine Vet Sci**, 2018.

KUZNETSOV S. A.; MANKANI M. H.; GRONTHOS S.; SATOMURA K.; BIANCO P.; ROBEY P. G. Circulating skeletal stem cells. **J Cell Biol.** v. 153, n. 5, p. 1133-1140, 2001.

LATIMER, F. G.; KANEPS A. J.; PASQUINI C. Stifle disease in horses: clinical examination and diagnostics. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 22, n.4, p. 381-390, 2000.

LEE K. B.; HUI J. H.; SONG I. C.; ARDANV L.; LEE E. H.; Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects--a porcine model. **Stem Cells.** v. 25, n. 11, p. 2964-2971, november 2007.

LEE B. C.; KIM H. S.; SHIN T. H.; KANG I.; LEE J. Y.; KIM J. J.; KANG H. K.; SEO Y.; LEE S.; YU K. R.; CHOI S. W.; KANG K. S. PGE2 maintains self-renewal of human adult stem cells via EP2-mediated autocrine signaling and its production is regulated by cell-to-cell contact. **SciRep**, v. 6, p. 1-12, 2016.

LIEBICH H. G.; FORSTENPOINTNER G.; PÉREZ W.; KÖNIG H. E. Introdução e Anatomia geral. *In*: KONIG H. E.; LIEBICH H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido.** 6 ed. Porto Alegre: Artumed, 2016. p. 1-52.

LOFTY A.; E1 – SHERBINY Y.; CUTHBERT R.; JONES E.; BADAWY A. Comparative study of biological characteristics of mesenchymal stem cells isolated from mouse bone marrow and peripheral blood. **Biomedical Reports.** p 165-170, 2019.

LOPEZ M. J.; JARAZO, J. State of the art: Stem cells in equine regenerative medicine. **Equine Vet J**, v. 47, n. 2, p. 145-154, 2014.

MAGRI C.; SCHRAMME M.; MARINHA F.; CAUVIN E.; LABADIE F.; SAULNIER N.; FRANÇOIS I.; LECHARTIER A.; AEBISCHER D.; MONCELET A. S.; MADDENS S. Comparison of efficacy and safety of single versus repeated intra-articular injection of allogeneic neonatal mesenchymal stem cells for treatment of osteoarthritis of the metacarpophalangeal/metatarsophalangeal joint in horses: A clinical pilot study. **PLOS ONE**, v. 14, n. 8, 2019.

MAHJOUB M.; BERENBAUM F.; HOUARD X. Why subchondral bone in osteoarthritis? The importance of the cartilage bone interface in osteoarthritis. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2012.

MAO, F; TU, Q; WANG, L.; CHU F.,; LI, X.; LI, H. S.; XU, W. Mesenchymal stem cells and their therapeutic applications in inflammatory bowel disease. **Oncotarget**, v.23, n. 8, , 2015.

MARIÑAS-PARDO L.; GARCÍA-CASTRO J.; RODRÍGUEZ-HURTADO I.; RODRÍGUEZ-GARCÍA M. I.; NÚÑEZ-NAVEIRA L.; HERMIDA-PRIETO M. Allogeneic Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (Horse Allo 20) for the Treatment of Osteoarthritis-Associated Lameness in Horses: Characterization, Safety, and Efficacy of Intra-Articular Treatment. **Stem Cells Dev.**, v. 27, n. 17, p. 1147-1160, 2018.

MARTTINEN P. H.; RAULO S. M.; SUOMINEN M. M.; TULAMO R. M. Changes in MMP-2 and -9 activity and MMP-8 reactivity after amphotericin B induced synovitis and treatment with bufexamac. **J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med**. v. 53, n. 6, p 311-318, 2006.

MARX R. E. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? **Implant Dent**. V. 10, n.4, p. 225-228, 2001.

MCCARREL T. M.; MALL N. A.; LEE A. S. COLE B. J.; BUTTY D. C.; FORTIER L. A. Considerations for the use of platelet-rich plasma in orthopedics. **Sports Med**. v. 44, n.8, p. 1025-1036, 2014.

MCILWRAITH C. W. Joint Injuries and Disease and Osteoarthritis. *In: Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter*. 6th edition. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2011. p. 871-889.

MCILWRAITH C. W. Arthroscopy/Endoscopy/Bursoscopy. *In: Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter*. 6th edition. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. p. 460-465.

MCILWRAITH C. W. Doenças das articulações, tendões, ligamentos e Estruturas Relacionadas. *In: STASHAK T. S. Claudicação em equinos segundo Adams*. 5 edição. São Paulo: Editora Roca, 2006. P. 417-438.

MCILWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; RODKEY W. G.; KISIDAY J. D.; WERPY N. M.; KAWCAK C. E.; STEADMAN J. R. Evaluation of Intra-Articular Mesenchymal Stem Cells to Augment Healing of Microfractured Chondral Defects. **Arthroscopic**, v. 27, n. 11, p. 1552-1561, 2011.

MCILWRAITH C. W. From Arthroscopy to Gene Therapy—30 Years of Looking in Joints. **AAEP PROCEEDINGS**, v. 51, p. 65-113, 2005.

MCILWRAITH C. W. Intraarticular Corticosteroids Drugs *In: MCLLWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E.; VAN WEEREN P. R. **Joint Disease in the Horse**. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016. p.202-214.*

MCILWRAITH C. W. Principles of Therapy for Lameness. *In: **Adams and Stashak's Lameness in Horses** edited by Gary M. Baxter. 6th edition. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2011. p. 957-1027.*

MCILWRAITH C. W. Traumatic Arthritis and Posttraumatic Osteoarthritis in the Horse *C. In: MCLLWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E.; VAN WEEREN P. R. **Joint Disease in the Horse**. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016. p. 33-48.*

MCILWRAITH C. W.; FRISBIE D. D. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs *In: MCLLWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E.; VAN WEEREN P. R. **Joint Disease in the Horse**. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016. p. 192-201.*

MCILWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E. The horse as a model of naturally occurring osteoarthritis. **Bone joint res.** p. 297-309, 2012.

MCILWRAITH, C.W. General Pathobiology of the joint and response to injury. *In: McIlwraith CW, Trotter GW (Eds.), **Joint Disease in the Horse**. Saunders: Philadelphia. P 40-70, 1996.*

MCILWRAITH C. W.; LATTERMANN C. Intra-articular Corticosteroids for Knee Pain-What Have We Learned from the Equine Athlete and Current Best Practice. **JKnee Surg**, v. 32, n. 1, p. 9-25, 2019.

MENDELSON S.; WOOLEY P.; LUCAS D.; MARKEL D. The effect of hyaluronic acid on a rabbit model of full-thickness cartilage repair. *Clin orthop relat res*, p. 266-271, 2004.

MIRZA M. H.; BOMMALA P.; RICHBOURG H. A.; RADEMACHER N.; KEARNEY M. T.; LOPEZ M. J. Gait changes vary among horses with naturally occurring osteoarthritis following intra-articular administration of autologous platelet-rich plasma. **Front Vet Sci.** v. 29, n. 3, 2016.

MOKBEL A. N.; TOOKHY O. S. E.; SHAMAA A. A.; RASHED L. A.; SABRY D.; SAYED A. M. E. Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. **BMC Musculoskeletal Disorders.** 2011.

MUNDY L. N.; ISHIHARA A.; WELLMAN M.L.; BERTONE, A.L. Evaluation of the ability of a gravitational filtration system to enhance recovery of equine bone marrow elements. **Am. J. Vet. Res.** v. 76, p. 561–569, 2015.

MURPHY, J. M.; FINK, D. J.; HUNZIKER, E. B.; BARRY F. P. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 48, n. 12, p 3464-3474, 2003.

MURRAY R. C.; ZNAOR N.; TANNER K. E.; DEBOWES R. M.; GAUGHAN E. M.; GOODSHIP A. E. The effect of intra-articular methylprednisolone acetate and exercise on

equine carpal subchondral and cancellous bone microhardness. **Equine Vet J** v. 34, n. 3, p. 306-310, 2002.

NARDI N.B. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. **Genét. Esc.**, p.25-29, 2007.

NAUTA, A.J.; FIBBE, W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stroma cells. **Blood**, v.110, n.10, p.3499-3506, 2007.

NELSON N. C.; PEASE A. P. Magnetic Resonance Imaging. *In*: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. **Equine Sugery**. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. p. 1217-1235.

OLIVA A.; PASSARO I.; DI PASQUALE R.; FEO A. D.; CRISCUOLO M.; ZAPPIA V.; RAGIONE F. D.; D'AMATO S.; ANNUNZIATA M.; GUIDA L. Ex vivo expansion of bone marrow stromal cells by platelet-rich plasma: a promising strategy in maxillo-facial surgery. **Int J Immunopathol Pharmacol**. v. 18, n. 3, p. 47-53, 2005.

ORTVED K. F; NIXON A. J. Cell-based cartilage repair strategies in the horse. **Vet J**, p. 1-12, 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.027>> Acesso em: 13 de março 2020.

PALMER J. L.; BERTONE A. L. Experimentally-induced synovitis as a model for acute synovitis in the horse. **Equine Vet. J**. v.26, p. 492-495, 1994

PARK, S. A.; REILLY C. M.; WOOD J. A.; CHUNG D. J.; CARRADE D. D.; DEREMER S. L.; SERAPHIN R. L.; CLARK K. C.; ZWINGENBERGER A. L.; BORJESSON D. L.; HAYASHI K.; RUSSELL P.; MURPHY C. J. Safety and immunomodulatory effects of allogeneic canine adipose-derived mesenchymal stromal cells transplanted into the region of the lacrimal gland, the gland of the third eyelid and the knee joint. **Cytotherapy**, v. 15, n. 12, p. 1498-1510, 2013.

PASTOUREAU PC, CHOMEL AC, BONNET J. Evidence of early subchondral bone changes in the meniscectomized guinea pig. A densitometric study using dual-energy X-ray absorptiometry subregional analysis. Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society. p. 466-473, 1999.

PATERSON Y. Z.; RASH N.; GARVICAN E. R.; PAILOTT R.; GUEST D. J. Equine mesenchymal stromal cells and embryo-derived stem cells are immune privileged in vitro. **Stem Cell Res Ther**, v. 90, n. 5, 2014.

PEASE A. P.; NELSON N. C. Computed Tomography. *In*: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. **Equine Sugery**. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. P. 1209-1217.

PEASE A. P.; NELSON N. C. Ultrasonography. *In*: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. **Equine Sugery**. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. P. 1190-1198.

PEZZANITE L. M. FORTIER L. A.; ANTCZAK D. F.; CASSANO J. M.; BROSNAHAN M. M.; MILLER D.; SCHNABEL L. V. Equine allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells elicit antibody responses in vivo. **Stem Cell Res Ther**, v. 54, n. 6, 2015.

- PIGOTT J. H.; ISHIHARAA A.; WELLMAN M. L.; RUSSELLB D. D.; BERTONE A. L. Investigation of the immune response to autologous, allogeneic, and xenogeneic mesenchymal stem cells after intra-articular injection in horses. **Vet Immunol Immunopathol**, v. 156, p. 99-106, 2013.
- PIGOTT J. H.; ISHIHARAA A.; WELLMAN M. L.; RUSSELLB D. D.; BERTONE A. L. Inflammatory effects of autologous, genetically modified autologous, allogeneic, and xenogeneic mesenchymal stem cells after intra-articular injection in horses. **Vet Comp Orthop Traumatol**, v. 26, p. 453-460, 2013.
- RADIN E. L.; PAUL I. L.; TOLKOFF M. J. Subchondral bone changes in patients with early degenerative joint disease. **Arthritis Rheum.** v. 13, p. 400, 1970.
- RAHEJA F. L.; GALUPPO L. D.; BOWERS-LEPORE J.; DOWD J. P.; TABLIN F.; YELLOWLEY C. E. Treatment of Bilateral Medial Femoral Condyle Articular Cartilage Fissures in a Horse Using Bone Marrow-Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. **J Equine Vet Sci**, v.31, n. 3, p. 147-154, 2011.
- RANERA B.; LYAHYAI J.; ROMERO A.; VAZQUEZ F.J., REMACHA A. R. et al. Immunophenotype and gene expression profiles of cell surface markers of mesenchymal stem cells derived from equine bone marrow and adipose tissue. **Vet. Immunol. Immunopathol.** v. 144, p. 147-154, 2011.
- REECE W. O; ROWE E.W. **Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals.** 5th Edition. Hoboken: Wiley-blackwell, 2017.
- RINNOVATI R.; ROMAGNOLI N.; SPADARI A. Dose-Finding Study for Intraarticular Treatment with Stanozolol in Horses. **J Equine Vet Sci**, v. 35, p. 860-864, 2015.
- SAETHER E. E.; CHAMBERLAIN C. S.; LEIFERMAN E. M.; KONDRATKO-MITTNACHT J. R.; LI W. J.; BRICKSON S. L.; VANDERBY R. Enhanced medial collateral ligament healing using mesenchymal stem cells: dosage effects on cellular response and cytokine profile. **Stem Cell Rev Rep.** v. 10, n. 1, p. 86-96, 2014.
- SALERI R.; DONDI M.; BIANCHI E. Stanozolol inhibits nitric oxide production by horse chondrocyte cell culture. **Bone**, v. 34, p. 34–73, 2004.
- SAMPSON S.; GERHARDT M.; MANDELBAUM B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. **Curr Rev Musculoskelet Med.** P. 165-174, 2008.
- SCHNABEL L. V.; PEZZANITE L. M.; ANTCZACK D. F.; FELIPPE M. J. B.; FORTIER L. A. Equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells are heterogeneous in MHC class II expression and capable of inciting an immune response in vitro. **Stem Cell Res Ther.** v. 5, n. 1, 2014.
- SCHNABEL L. V.; FORTIER L. A.; MCILWRAITH C. W.; NOBERT K. M. Therapeutic use of stem cells in horses: Which type, how, and when? **Vet J**, 2013. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.04.018>> Acesso em: 15 de março de 2020.

SCHNABEL L.V.; BOONE L.; PERONI. Regenerative Medicine. *In: AUER J.A.; KÜMMERLE J.M.; PRANGE T. Equine Surgery*. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2019. p. 120-122.

SCHNABEL L.V.; PEZZANITE L.M.; ANTCZAK D.F.; FELIPPE M. J. FORTIER L.A. Equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells are heterogeneous in MHC class II expression and capable of inciting an immune response in vitro. **Stem Cell Res. Ther.** 2014.

SCHUH E. M.; FRIEDMAN M. S.; CARRADE D. D.; LI J.; HEEKE D.; OYSERMAN S. M.; GALUPPO L. D.; LARA D. J.; WALKER N. J.; FERRARO G. L.; OWENS S. D.; BORJESSON, D. L. Identification of variables that optimize isolation and culture of multipotent mesenchymal stem cells from equine umbilical-cord blood. **Am J Vet Res**, v. 70, n. 12, p. 1526-1535. 2009.

SHARMA R.R.; POLLOCK K.; HUBERL A.; MCKENNA D. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. **Transfusion**, v. 54, n. 5, p. 1418-1437, 2014.

SNIEKERS Y. H.; INTEMA F.; LAFEVER F. P.; VAN OSCH G. J. V. N.; VAN LEEUWEN J. P. T. M.; WEINANS H.; MASTBERGEN S. C. A role for subchondral bone changes in the process of osteoarthritis; a micro-CT study of two canine models. **BMC musculoskeletal disorders**. v. 20, n.9, 2008.

SOUZA C.F.; NAPOLI P.; HAN S.W.; LIMA V.C.; CAVALHO ACC. Células-tronco mesenquimais: células ideais para a regeneração cardíaca? **Rev. Bras. Cardiol. Invasiva**, v.18, n.3. São Paulo, 2010.

SPADARI A.; ROMAGNOLI N.; PREDIERI P. G.; BORGHETTI P.; CANTONI A. M.; CORRADI A. Effects of intraarticular treatment with stanozolol on synovial membrane and cartilage in an ovine model of osteoarthritis. **ResVet Sci**, v. 94, n. 3, p. 379-387, 2013.

SPADARI A.; RINNOVATI R.; BABBINI S.; ROMAGNOLI N. Clinical evaluation of intra-articular administration of stanozolol to manage lameness associated with acute and chronic osteoarthritis in horses. **J Equine Vet Sci**, v. 35, p. 105-110, 2015.

SPENCER N. D.; GIMBLE J. M.; LOPEZ M. J. Mesenchymal stromal cells: past present and future. **Vet Sug**, v. 40, p. 129-139, 2011.

STAGG J. Immune regulation by mesenchymal stem cells: two sides to the coin. **Tissue Antigens**. v. 69, p 1-9, 2007.

SUGIUCHI H.; ANDO Y.; MANABE M. et al. Measurement of total and differential white blood cell counts in synovial fluid by means of an automated hematology analyzer. **J Labarat Clin Med**, v. 146, n.1, p. 36-47, 2005.

SUOMINEN M. M.; TULAMO R. M.; PUUPPONEN L. M.; SANKARI S. M. Effects of intraarticular injections of buprenorphine suspension on amphotericin B-induced aseptic arthritis in horses. **Am J Vet Res**. v. 60, n. 12, p. 1467-1473, 1999.

SUTTON S., CLUTTERBUCK A., HARRIS P. GENT T.; FREEMAN S.; FOSTER N.; BARRET-JOLLEY R.; MOBASHERI A. The contribution of the synovium, synovial derived

inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. **Vet J**, v. 179, n.1, p. 10-24, 2009.

TESSIER L.; BIENZLE D.; WILLIAMS, L. B.; KOCH, T.G. Phenotypic and immunomodulatory properties of equine cord blood-derived mesenchymal stromal cells. **PLoS One** **10**, 2015.

TEXTOR, J. Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, Fort Collins**, v. 27, n. 2, p. 275-298, 2011.

URSINI T. L.; AMELSE L. L.; ELKHENANY H. A.; ODOI A.; CARTER-ARNOLD J. L.; ADAIR H. S.; DHAR M. S. Retrospective analysis of local injection site adverse reactions associated with 230 allogenic administrations of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in 164 horses. **Eq Vet J**. v. 51, n. 2, p. 198-205, 2019.

UVEBRANT K.; RASMUSSEN L. R.; TALTS J. F.; ALBERTON P.; ASZODI A.; LUDGREN-ARKELOUND. Integrin $\alpha 10\beta 1$ -selected equine MSCs have improved chondrogenic differentiation, immunomodulatory and cartilage adhesion capacity. **Ann Stem Cell Res**. v. 2, n.1, p. 1-5, 2019.

VALDÉS-MARTÍNEZ A.; STEYN. P.F. Nuclear Medicine. *In: Adams and Stashak's Lameness in Horses edited by Gary M. Baxter*. 6th edition. Hardcover: Wiley-Blackwell, 2011. p. 377-415.

VAN VELTHOVEN C. T. J.; KAVELAARS A.; VAN BEL F.; HEIJNEN, C.J. Repeated Mesenchymal Stem Cell Treatment after Neonatal Hypoxia-Ischemia Has Distinct Effects on Formation and Maturation of New Neurons and Oligodendrocytes Leading to Restoration of Damage, Corticospinal Motor Tract Activity, and Sensorimotor Function. **Journal of Neuroscience**. v. 30, n. 28, p. 9603-9611, 2010.

VAN WEEREN P.R. General Anatomy and Physiology of Joints. *In: MCLLWRAITH C. W.; FRISBIE D. D.; KAWCAK C. E.; VAN WEEREN P. R. Joint Disease in the Horse*. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016. p. 1-24.

VAN WEEREN. Joint physiology: responses to exercise and training. *In: HINCHCLIFF. K. W.; KANEPS, A. J. GEOR R. J. Equine Sports Medicine and Surgery Basic and Clinical of the equine athlete*. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p. 213.

VARAS L.; OHLSSON L. B.; HONETH G.; OLSSON A.; BENGTSSON T.; WIBERG C.; BOCKERMANN R.; JARNUM S.; RICHTER J.; PENNINGTON D.; JOHNSTONE B.; LUDGREN-AKERLOUND E.; KJELLMAN C. $\alpha 10$ integrin expression is up-regulated on fibroblast growth factor-2-treated mesenchymal stem cells with improved chondrogenic differentiation potential. **Stem Cells Develop**. v. 6, n. 6, p. 965-978, 2007.

VENDRUSCOLO, C. P.; ALVES A. L.; BROSSI P. M.; BACCARIN R. Y. A. Uso do soro autólogo condicionado e do plasma rico em plaquetas na terapia ortopédica de equinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2607-2624, 2014.

VIDAL M. A.; KILROY G. E.; JOHNSON J. R.; LOPEZ, M. J.; MOORE R. M.; GIMBLE J. M. Cell growth characteristics and differentiation frequency of adherent equine bone marrow-

derived mesenchymal stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity. **Vet. Surg.** v. 35, p. 601-610, 2006.

VIDAL M. A.; KILROY, G.E.; LOPEZ, M.J.; JOHNSON, J.R.; MOORE, R.M; GIMBLE J.M. Characterization of equine adipose tissue-derived stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity and comparison with bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. **Vet Surg** v, 36, p. 613-622, 2007.

WILKE M. M.; NYDAM D. V.; NIXON A. J. Enhanced Early Chondrogenesis in Articular Defects following Arthroscopic Mesenchymal Stem Cell Implantation in an Equine Model. **J Orthop Res**, p. 913-925, July 2007.

WILLIAMS L. B.; KOENIG J. B.; BLACK B.; GIBSON T. W. G.; SHARIF S.; KOCH T. G. Equine allogeneic umbilical cord blood derived mesenchymal stromal cells reduce synovial fluid nucleated cell count and induce mild self-limiting inflammation when evaluated in an LPS induced synovitis model. **Eq Vet J**, 2015.

YAMADA A. L. M.; CARVALHO A. M.; OLIVEIRA P. G. G. et al. Plasma rico em plaquetas no tratamento de lesões condrais articulares induzidas experimentalmente em equinos: avaliação clínica, macroscópica, histológica e histoquímica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.2, p.323-332, 2012.

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

ZAGO M.A.; COVAS D.T. **Células-tronco: a nova fronteira da medicina.** São Paulo: Atheneu, 2006. 245p.

ZHU S. Y.; LI Y. H.; MA H. M.; HUANG T.; LUO H.; DOU J.; DU M.; Stanozolol regulates proliferation of growth plate chondrocytes via activation of ERalpha in GnRHa-treated adolescent rats. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 24, p. 275-281, 2011.

**APÊNDICE A – TABELA DE RESUMO COM AS CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS COM ANIMAIS
INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Referência	Design de estudo	Duração do estudo	Origem e fonte das CTM	Tamanho da amostra (por grupo)	Nº de CTM	Frequência	OA	Articulação
Barrachina et al. (2018)	Estudo experimental não randomizado de placebo-controle	6 meses	Alogênicas, BMSCs	Tratados: CTMs nativa n=7; CTMs preparada n=7; Controle n=4	25 milhões	Duas injeções	Artrite induzida por injeção IA de anfotericina B	Radio-carpal
Brockx et al. (2019a)	Estudo experimental randomizado duplo-cego controlado por placebo	11 semanas	Alogênicas, PBSC em combinação com PRP	Tratados n=6; Controle n=6	2 milhões + 98 milhões (células, plasma)	Injeção única	OA induzida usando um modelo de fragmento-sulco osteocondral	Metacarpofalângica
Broeckx et al. (2014a)	Estudo preliminar	12 meses	Alogênicas, PBSC em combinação com PRP	Experimento 1: tratados PRP n=5; CTMs n=5; CTMs+PRP n=5; CTMs induzidas por condrogênicos + PRP n=5. Experimento 2: combinação 1 CTMs +PRP n=15; combinação 2 CTMs induzidas por condrogênicos + PRP n=15	6.7 milhões + 200 milhões (células, PRP)	Injeção única	OA de ocorrência natural	Metacarpo /metatarsofalângica

Broeckx et al. (2014b)	Estudo piloto	18 semanas	Alogênicas, PBSC em combinação com PRP	Tratados n=165 (grupo 1 CTMs nativa + PRP; grupo 2 CTMs induzidas por condrogênicos + PRP)	6.7 milhões + 130 milhões (células, PRP)	Injeção única	OA de ocorrência natural	Fêmoro-tíbio-patelar, metacarpofalângica, interfalângica distal e proximal
Broeckx et al. (2019b)	Estudo randomizado multicêntrico duplo-cego e controlado por placebo	6 semanas ± 5 dias	Alogênicas, PBSC em combinação com PRP	Tratados n= 50; Controle n=25	2 milhões + 85 milhões (células, PRP)	Injeção única	OA de ocorrência natural	Metacarpo e metatarsofalângicas
Colbath et al. (2019b)	Estudo controlado randomizado	2 semanas	Alogênicas e autólogas em comparação, BMSCs	Tratados n=8 (articulações tratadas autólogas n=8; alogênicas n=8)	10 milhões	Duas injeções	Sinovite induzida por IL-1β	Tarsocrural
Delco et al. (2020)	Estudo de laboratório controlado	6 meses	Alogênicas, ADSCs	Tratados n=8 (articulações tratadas n=8; contralaterais com placebo n=8)	20 milhões	Injeção única	OA induzida experimentalmente por cirurgia de impacto (cirurgia artroscópica)	Talocrural
Ferris et al. (2014)	Série prospectiva de casos	Média de 24 meses	Alogênicas, BMSCs	Tratados n=33	15 a 20 milhões	x	Lesões meniscais, lesões em cartilagens ou ligamentares de ocorrência natural	Femorotibiais
Frisbie et al. (2009)	Estudo experimental não randomizado de placebo-controlado	2 meses e 10 dias	Autólogas, BMSCs	Tratados FVE n=8; BMSCs n=8; Placebo n=8	10,5 milhões	Injeção única	OA induzida artroscopicamente por fragmento osteocondral	Mediocárpica
Korchunjit et al. (2018)	Estudo experimental randomizado cego	3 meses	Alogênicas, BMSCs	Tratados n=5; Controle n=5	10 milhões	Injeção única	OA induzida por fragmentos artroscopicamente	Carpo

Magri et al. (2019)	Estudo piloto clínico multicêntrico randomizado duplo cego controlado	6 meses	Alogênicas, UCSC	Tratados n=28 (grupo 1 n=14 uma injeção; grupo 2 n= 14 duas injeções)	10 milhões	Injeção única; duas injeções	OA de ocorrência natural	Metacarpofalângica
Mariñas-Pardo et al. (2018)	Estudo randomizado multicêntrico de placebo-controlado duplo-cego	90 dias	Alogênicas, ADSCs	Tratados n=72 (grupo <i>Horse Allo</i> n= 37; grupo controle n= 35)	10 milhões	Duas injeções	OA de ocorrência natural	Tarsometatarsais, intertarsais distais, interfalangeanas proximais e distais, metacarpofalangianas radiocarpais e tarsocrurais
McIlwraith et al. (2011)	Estudo experimental randomizado	12 meses	Autólogas, BMSCs	Tratados n=10 (articulações tratadas com BMSCs n=10; articulações controle n=10)	20 milhões + 22 mg (HA)	Injeção única	OA induzida por defeitos condrais seguidos de microfraturas criados artroscopicamente	Femorotibiais
Wilke et al. (2007)	Estudo experimental não randomizado de placebo-controlado	8 meses	Autólogas, BMSCs	Tratados n=6 (articulações tratadas com BMSCs n=6; articulações controle n=6)	12 milhões	Injeção única	OA induzida por remoção da cartilagem por artroscopia	Femoropatelar
Williams et al. (2015)	Estudo experimental randomizado cego	1 semana	Alogênicas, UCSC	Tratados n=6 (articulações tratadas n=6; articulações controle n=6)	10 milhões	Injeção única	Sinovite induzida por LPS	Mediocárpica

ADSCs: *adipose-derived stem cells*; **BMSCs:** *bone-marrow stromal cells*; **CTMs:** células tronco mesenquimais; **FVE:** fração vascular estromal; **HA:** ácido hialurônico; **IA:** intra-articular; **IL-1β:** interleucina 1 beta; **LPS:** lipopolissacarídeo; **OA:** osteoartrite; **PBSC:** *peripheral blood stem cells*; **PRP:** plasma rico em plaquetas; **UCSC:** *umbilical cord stem cells*.

APÊNDICE B – TABELA DE RESUMO DOS PARÂMETROS AVALIADOS E RESULTADOS DOS ESTUDOS COM ANIMAIS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA

Referência	Parâmetros avaliados	Resultados	Progressão dos animais após estudo
Barrachina et al. (2018)	Exames clínicos (FC, FR e T° retal), exames de claudicação (pontuada pela escala da AAEP) e inflamação monitorada pela circunferência do carpo e calor do local. Exame sinovial (citológico e de marcadores sinoviais), de imagem (US, Raio x, RM), exame <i>post-mortem</i> (histoquímica, expressão gênica) da cartilagem e membrana sinovial.	Os sinais inflamatórios clínicos e sinoviais foram mais rapidamente reduzidos nos grupos tratados com CTMs. Células alogênicas não produziram reação adversa. US sugeriu uma redução da efusão sinovial nos grupos tratados com CTMs. A histoquímica da cartilagem sugeriu progressão tardia da perda de proteoglicanos nos grupos tratados com CTMs. A histopatologia sinovial indicou diminuição da inflamação nos grupos tratados com CTMs preparadas. Na membrana sinovial, ambos os tratamentos com CTMs diminuíram a expressão de MMP-13 da matriz e as CTMs preparadas também reduziu o TNF α e IL-1 β .	Eutanásia dos animais.
Brockx et al. (2019a)	Exame físico, avaliação articular (T° local, efusão, dor a palpação, amplitude de movimento e circunferência articular), exame visual da claudicação (pontuada através da escala AAEP), análise do fluido sinovial (citologia e de marcadores sinoviais), radiografias e exames <i>post-mortem</i> (macroscópico, histológico e imuno-histoquímico).	CTMs combinadas com PRP resultou em claudicação e efusão reduzida; melhora na viscosidade do fluido sinovial; redução na severidade das linhas de desgaste; diminuição da hiperemia sinovial; aumento na quantidade de GAGs, COMP e colágeno tipo II.	Eutanásia dos animais.
Broeckx et al. (2014a)	Avaliação articular (efusão, respostas ao teste de flexão), exame visual da claudicação (pontuada através da escala AAEP).	Ambas terapias combinadas de PRP e CTMs (induzidos por condrogênicos ou não), melhoraram significativamente os escores de evolução clínica precoce e tardia, melhorando em geral a clínica na funcionalidade e sustentabilidade das articulações.	O tratamento sustentou-se até 12 meses após o tratamento.

Broeckx et al. (2014b)	Avaliação articular (inchaço, calor, hipersensibilidade), exame visual da claudicação (pontuada através da AAEP) e observação de efeitos adversos ou reações de hipersensibilidade (formação de pápulas, sudorese, aumento da FR, e febre).	Melhores resultados clínicos gerais no grupo de CTMs induzido por condrogênicos mas sem diferença estatística.	A curto prazo (6 meses) 45% (CTMs nativas) e 60% (CTMs induzidas por condrogênicos) retornaram ao trabalho, aumentou ainda mais após 18 meses (78% para as CTMs nativas e 86% para as induzidas por condrogênicos). O efeito do tratamento sustentou-se um ano após seu término. 37% dos cavalos estavam trabalhando em nível de treinamento, em comparação com 8% dos cavalos tratados com placebo. Além disso, 47% dos cavalos tratados com controle-placebo retornaram ao nível anterior de trabalho, em comparação com nenhum dos cavalos tratados com placebo.
Broeckx et al. (2019b)	Exames clínicos (medição da T°, FR, FC e exame geral do corpo), avaliação visual da claudicação (usando o sistema de pontuação AAEP) e avaliação articular (respostas ao teste de flexão e efusão articular).	Melhoria clínica (diminuição nos escores de claudicação, uma diminuição na resposta à flexão e uma diminuição na efusão articular) além da secreção nasal, nenhum evento adverso foi observado.	
Colbath et al. (2019b)	Citologia, bioquímica de fluidos sinoviais, exames físicos, avaliação articular (circunferência, efusão, calor) e exame de claudicação (baseado no sistema de pontuação AAEP).	Não foi detectada diferença entre os grupos de tratamento autólogo e alogênico em relação aos parâmetros clínicos e citológicos observados. Os tratamentos autólogos e alogênicos não resultaram em uma melhoria nos resultados clínicos ou citológicos.	Não foi descrito pelo estudo
Delco et al. (2020)	Citologia e bioquímica de fluidos sinoviais, imagem (RM, Raio x e artroscopia) e exame <i>post-mortem</i> (histologia, e imuno-histoquímica) da cartilagem.	Menos fibrilação da cartilagem e menos esclerose óssea subcondral aos 6 meses após a indução da lesão. Concentração de PGE2 aumentada nos grupos tratados com CTMs.	Eutanásia dos animais
Ferris et al. (2014)	Questionamentos aos proprietários sobre o nível anterior de desempenho, claudicação antes do tratamento (baseado na escala AAEP), claudicação atual, desempenho atual e efeitos colaterais ao tratamento.	Melhoria na capacidade de retornar ao trabalho em 76% dos animais.	43% dos cavalos retornaram ao nível anterior de trabalho, 33% retornaram ao trabalho e 24% não retornaram ao trabalho.

Frisbie et al. (2009)	Avaliação articular (efusão, dor, amplitude do movimento), radiográfica, citológica e bioquímica do fluido sinovial, <i>exame post-mortem</i> (histológicos, bioquímicos e histoquímicos).	Nenhum efeito adverso. Uma administração da FVE foi associada ao aumento da concentração de TNF α no líquido sinovial. CTMs reduziu o nível sinovial de PGE $_2$. Não foram observados efeitos significativos nas avaliações brutas e histológicas da cartilagem articular, bem como a membrana sinovial.	Eutanásia dos animais.
Korchunjit et al. (2018)	Exame de claudicação (baseado no sistema de pontuação AAEP), avaliação articular (dor, efusão sinovial, resposta a flexão e amplitude do movimento articular), exames radiográficos e análise citológica e bioquímica do fluido sinovial.	O grupo de tratamento com CTMs apresentou melhora no escore do exame físico (grau de dor, resposta de dor a flexão, menor grau de claudicação) e desempenho nas corridas, menor formação de osteófitos e células mononucleares no líquido sinovial. Nenhum efeito adverso encontrado.	Todos os cavalos no grupo de tratamento com CTMs poderiam retornar às corridas sem efeitos colaterais e sofrer nova lesão durante a observação de um ano. Um cavalo mostrou excelente desempenho depois de voltar ao vencer três corridas. Para o grupo de tratamento convencional, três dos cinco cavalos não conseguiram retornar às corridas devido a uma nova lesão na articulação do carpo.
Magri et al. (2019)	Avaliação da claudicação e articulação (palpação e flexão da art.) e exames radiográficos.	Apresentou baixos riscos de efeitos adversos; melhora nos escores de claudicação, testes de flexão e efusão articular nos dois grupos. Não houve diferença nos benefícios clínicos na administração IA repetida comparado a uma única injeção.	5 cavalos retornaram ao nível de trabalho pretendido, 8 a níveis mais baixos e 9 permaneceram claudicantes.
Mariñas-Pardo et al. (2018)	Avaliação clínica dos escores de claudicação.	Reduziu efetivamente a claudicação em um período de 90 dias no grupo <i>Horse Allo</i> .	Não foi descrito pelo estudo
McIlwraith et al. (2011)	Avaliação articular (dor, efusão sinovial, resposta a flexão e amplitude de movimento articular) e exame de claudicação (baseados no sistema de pontuação AAEP), exames de imagem (radiografia, artroscopia, RM) e exames <i>post-mortem</i> (histológicos - da membrana e cartilagem articular;, histomorfométricos, imunohistoquímicos e bioquímicos da cartilagem articular).	Avaliação bruta e artroscópica revelou um aumento significativo na firmeza do tecido reparador nas articulações tratadas com BMSCs. A análise imuno-histoquímica mostrou níveis significativamente maiores de <i>agrecan</i> . Não houve evidência de melhoras clínicas e histológicas significativas.	Eutanásia dos animais.

Wilke et al. (2007)

Citologia e bioquímica do fluido sinovial, avaliação artroscópica e exames *post-mortem* (macroscópico, histológico, imuno-histoquímico, hibridização *in situ* do colágeno tipo II e ensaios bioquímicos matriciais).

A biópsia histológica em 30 dias mostrou que os defeitos implantados continham tecido fibroso aumentado com vários defeitos com predominância de colágeno tipo II. A longo prazo (8 meses), as lesões provocadas estavam preenchidas com tecido de reparo no grupo tratado com CTMs e de controle, mas sem diferença estatística. Entretanto, isso não foi sustentado durante ao longo do estudo de 8 meses. Ambos os grupos, o conteúdo de colágeno e proteoglicanos foram semelhantes. Melhoraram na resposta cicatricial precoce, mas não houve melhora significativamente na aparência histológica ou composição bioquímica da cartilagem.

Eutanásia dos animais.

AAEP: American Association of Equine Practitioners; **COMP:** proteína oligomérica da matriz da cartilagem; **CTMs:** células tronco mesenquimais; **FC:** frequência cardíaca; **FR:** frequência respiratório; **FVE:** fração vascular estromal; **GAGs:** glicosaminoglicanos; **IA:** intra-articular; **IL-1 β :** interleucina 1 beta; **MMP-13:** *colagenase - 13*; **PGE₂:** prostaglandina E₂; **PRP:** plasma rico em plaquetas; **RM:** ressonância magnética; **T°:** temperatura; **TNF α :** *fator de necrose tumoral alfa*; **US:** ultrassonografia.