



UFRPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE
TECIDO ADIPOSO (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA
COXOFEMORAL EM CÃES (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)**

JACKSON DE OLIVEIRA SIQUEIRA

RECIFE-PE

2018



UFRPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE
TECIDO ADIPOSEO (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA
COXOFEMORAL EM CÃES (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)**

“Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Weinstein Teixeira
Co-orientador: Prof. Dr. Anísio Francisco Soares”.

RECIFE-PE

2018

BANCA EXAMINADORA

**USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE
TECIDO ADIPOSEO (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA
COXOFEMORAL EM CÃES (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal Tropical, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta Universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

Jackson de Oliveira Siqueira

Data ____/____/____

Marcelo Wenstein Teixeira (Orientador)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Amaro Fábio de Albuquerque Souza

Médico Veterinário

Prefeitura Municipal de Recife

Edson Vilela de Melo Filho

Médico Veterinário autônomo

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser um Pai presente e ter me concedido o dom da vida, dar-me suporte em todas as situações e nunca me abandonar.

À minha família, em especial à minha mãe, Edilamar, por ter sido uma lutadora e um exemplo a ser seguido, à minha esposa, Amanda, sempre tão dedicada e companheira, aos meus irmãos Kadson Ronilson e lane Michele pela convivência e ensinamentos diários e ao meu pai Antônio Alves já falecido.

Ao meu orientador, Marcelo Teixeira por ter aceitado o desafio junto comigo de enfrentar o mestrado e por todos os ensinamentos compartilhados.

A Empresa Regenera-Medicina Veterinária avançada® pelo apoio e fornecimento das CTM.

A Michele Andrade de Barros por todo apoio e colaboração durante a realização do experimento.

A todos os professores que dedicaram suas vidas ao ensino. Sou grato a todos.

A toda a equipe que de alguma maneira colaborou com o andamento do experimento: Edson Vilela, Marianna Ubrik, Thaygo Maçal, Izabel Guerra, Caroline Leite, Ana Cristina, Viviane Santos e Luiza Almeida. A ajuda de vocês foi fundamental.

A todos os tutores que confiam diariamente seus animais a mim. Os que se tornaram amigos e mesmo os mais complicados.

Aos animais, aos quais decidi dedicar a minha vida laboral e busco aliviar o sofrimento causado pelos procedimentos.

FONTE FINANCIADORA

CAPES – Bolsista do primeiro semestre de 2016 ao primeiro semestre de 2018.

SUMÁRIO

1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 DISPLASIA COXOFEMORAL.....	14
2.1.1 Diagnóstico da displasia coxofemoral.....	16
2.1.2. Tratamento da displasia coxofemoral.....	20
2.1.2.1 Tratamento conservador	21
2.1.2.2 Tratamento Cirúrgico.....	24
2.2 CÉLULAS-TRONCO	26
2.2.1. Células-tronco mesenquimais em afecções articulares	30
3. OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
CAPÍTULO 1	34
USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE TECIDO ADIPOSE (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA COXOFEMORAL EM CÃES (<i>CANIS LUPUS FAMILIARIS</i>)	34
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
5. REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICES.....	64
ANEXO	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Parâmetros clínicos utilizados na avaliação durante locomoção nos dias 0, 30, 60 e 90 após a aplicação de AD-CTM alógenas em cães portadores de DCF..... 38

Figura 2: Parâmetros clínicos utilizados na avaliação físico-ortopédica nos dias 0, 30, 60 e 90 após a aplicação de AD-CTM alógenas em cães portadores de DCF.....38

Figura 3: Perguntas referentes ao Índice de dor crônica de Helsinque aplicado aos proprietários nos dias 0, 30, 60 e 90.....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal dos animais, idade e escore de condição corporal.....40

Tabela 2. Parâmetros avaliados em ambos os membros durante a locomoção nos dias 0, 30, 60 e 90 após a aplicação das células-tronco mesequimais alógenas derivadas do tecido adiposo.....41

Tabela 3. Avaliação físico-ortopédica realizada em ambos os membros nos dias 0, 30, 60 e 90 após a aplicação das células-tronco mesequimais alógenas derivadas do tecido adiposo.....41

Tabela 4. Dados obtidos no Índice de dor crônica de Helsinque, em 0, 30, 60 e 90 dias.....42

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Classificação de graus de acordo com a FCI.....	18
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACF - Articulações Coxofemorais
AD-CTM – Células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo
AN - Ângulo de Norberg
BVA/KC – Associação Veterinária Britânica / Kennel Club (*British Veterinary Association/Kennel Club*)
CDd- Células dendríticas
CD- *Cluster of differentiation*
CEUA/UFRPE - Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco
CT – Células-tronco
CTE- Células-tronco embrionárias
CTM - Células-tronco mesenquimais
CTPI- Células-tronco pluripotente induzidas
DAD - Doença Articular Degenerativa
DCF - Displasia Coxofemoral
DLS - Escore de Subluxação Dorsolateral (*Dorsolateral Subluxation Score*)
E.G. – Exempli gratia
FAI – Choque Femoroacetabular
FCI- Federação Cinológica Internaciocal (*Fédération Cynologique Internationale*)
FVE - Fração Vascular Estromal
GAG–polissulfatados - Glicosaminoglicanos polissulfatados
GM-CSF - Fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos
HGF -Fator de crescimento de hepatócitos
HLA-G5 - Antígeno leucocitário humano - G
HOVET/UFRPE - Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco
ID - Índice de Distração
IDO - Indolamina 2,3-dioxigenase
IGF- 1 - Fator de crescimento similar a insulina
IL – Interleucina
iNOS - Óxido nítrico síntese induzível
LIF - Fator inibidor da leucemia

M-CSF - Fator estimulante de colônias de macrófago
MO-CTM – Células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea
MCP-1 - Fator de crescimento placentário
NK- Células natural Killer
OA - Osteoartrite
OFA - Fundação Ortopédica para Animais (*The Orthopedic Foundation for Animals*)
OTP - Osteotomia Tripla Pélvica
TC - Tomografia Computadorizada
TGF- β - Fator de crescimento transformante
TNF- α - Fator de necrose tumoral
VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular
PennHIP - Programa de Melhoria Pensilvânia (*Pennsylvania Hip Improvement Program*)
PGE-2 - Prostaglandina
PT- Prótese Total do Quadril
RM - Ressonância Magnética
SDF-1 - Fator 1 derivado das células do estroma
SPJ - Sinfisiodese Púbica Juvenil
SITC - Sociedade Internacional de Terapia Celular
SIRC - Sociedade Internacional para Reparo Da Cartilagem

1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA

A displasia coxofemoral (DCF) é um transtorno de desenvolvimento comum do cão, consistindo em graus variados de frouxidão das articulações coxofemorais (ACF), remodelação progressiva das estruturas do quadril e subsequente desenvolvimento de artrose óssea (REMEDIOS; FRIES, 1995; SYRCLE, 2017).

Apesar de ter sido inicialmente relatada em 1935 por Schnelle e da intensificação dos estudos sobre a DCF a partir da década de 50, a afecção continua a ser amplamente diagnosticada (SYRCLE, 2017) e é considerada a condição ortopédica mais diagnosticada no cão (GASPAR et al., 2016).

Em longo prazo, a DCF promove desgaste das superfícies articulares e contribui para o desenvolvimento de doença degenerativa (DAD), podendo evoluir para luxação parcial ou total (GINJA et al., 2010). A frouxidão nas ACF é considerada um dos principais fatores de risco associada a DCF e também é a base para diversas formas de diagnóstico radiográficos e tratamentos (SMITH, 1997; POWERS et al., 2010; RUNGE et al., 2010; ANDERSON, 2011; BUTLER; GAMBINO, 2017).

Embora as causas não sejam completamente conhecidas, fatores genéticos e ambientais (taxa de crescimento, nutrição inadequada e exercícios) influenciam a ocorrência da doença (JANUTTA; HAMANN; DISTL, 2008; KING, 2017). O diagnóstico da DCF é realizado a partir da associação de anamnese, sinais clínicos e exame físico, e a confirmação é feita através de exames de imagem sendo a radiografia o método mais aceito mundialmente (SOUZA; TUDURY, 2003; GINJA; PENA; FERREIRA, 2005; KARBE et al., 2012; YAYGINGÜL; SARIERLER, 2013).

A escolha por tratamento conservador ou cirúrgico depende da idade do paciente e da gravidade da doença. O tratamento conservador (e.g. restrição do exercício, perda de peso, analgésicos ou condroprotetores) é concentrado no controle da dor e retardo das alterações degenerativas, porém, os resultados disponíveis em literatura são controversos e demonstram eficiência questionável (BARR; DENNY; GIBBS, 1987; FARRELL et al., 2007). Os tratamentos cirúrgicos, por sua vez, podem ser destinados a evitar a evolução da afecção (e.g. sinfisiodese púbica juvenil ou osteotomia tripla da pelve) ou aplicados quando DAD já estiver instalada (e.g. prótese de quadril, denervação acetabular ou a exérese da cabeça e colo femorais) (SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Entretanto, não há ainda um tratamento considerado

padrão ouro (GINJA et al., 2010; BERGH; BUDSBERG, 2014; BELSHAW; ASHER; DEAN, 2016).

Assim, novos métodos para o tratamento da DCF têm sido estudados no intuito de minimizar a sintomatologia clínica e conseqüentemente promover melhoria na qualidade de vida dos animais (RIALLAND et al., 2013; VILAR et al., 2014; SCHACHNER; LOPEZ, 2015; SCHILLER, 2017). Nesse contexto, a utilização de terapia celular no manejo de condições resultantes da DCF (BLACK et al., 2007; VILAR et al., 2014) e osteoartrite (KONG et al., 2017; MARX et al., 2014; VALLONE et al., 2013), surge como uma nova alternativa.

Estudos têm demonstrado a capacidade das células-tronco mesenquimais (CTM) de se diferenciar em variados tecidos, além dos efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores e imunossupressores, oferecendo possibilidades de regeneração e manutenção da cartilagem articular e também contribuindo para diminuição da dor e o aumento da funcionalidade articular (DA SILVA MEIRELLES et al., 2009; SALGADO et al., 2010).

No entanto, a literatura científica destaca uma acentuada disparidade entre os supostos benefícios das células-tronco (CT) e sua comprovação prática. Assim, estudos visando direcionamento futuro de terapias efetivas baseadas no uso das CT são de extrema importância (VOLK; THEORET, 2013; WHITWORTH; BANKS, 2014; FILARDO et al., 2016; MARKOSKI, 2016).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DISPLASIA COXOFEMORAL

A Displasia coxofemoral (DCF) é descrita como uma doença de caráter genético, de natureza poligênica e multifatorial (BRASS, 1989; ZHANG et al., 2009), que causa dor de intensidade leve a grave e graus variáveis de incapacidade física em cães portadores desta condição (KAPATKIN et al., 2002) podendo ocorrer uni ou bilateralmente (LUST, 1997).

Pode acometer gatos e cães de pequeno porte, entretanto, apesar de não haver predileção sexual ou racial, é frequentemente relatada em raças de médio e grande portes como Labrador, Golden Retrievers, Pastores Alemães e Rottweilers (FRIES; REMEDIOS, 1995; COOK; TOMLINSON; CONSTANTINESCU, 1996; "OFA", 2017; SYRCLE, 2017).

A prevalência da DCF varia amplamente dentre trabalhos e dentro das raças. Um estudo avaliou registros médicos de 27 hospitais de ensino veterinário e mostrou uma prevalência de apenas 3,5% (WITSBERGER et al., 2008). Por outro lado, dados da Fundação Ortopédica para Animais (OFA) revelam uma prevalência estimada variando de 1% em cães da raça Whippet a 80% em Bulldogs (SCHACHNER; LOPEZ, 2015; KING, 2017; SYRCLE, 2017). Outro estudo relatou prevalência com variação de 16,7 a 71,4 % (BROECKX et al., 2014). Essa disparidade é atribuível à dificuldade em avaliar com precisão uma amostra verdadeiramente representativa da população total, juntamente com diferenças na prevalência entre grupos localizados, resultando em viés de amostragem (KING, 2017).

Cães predispostos a DCF nascem com os quadris normais e posteriormente se tornam displásicos (KING, 2017). Uma acentuada disparidade no desenvolvimento dos tecidos moles e ósseos resulta em instabilidade e frouxidão articular (SOUZA; TUDURY, 2003). Conseqüentemente ocorre uma incongruência das ACF e um aumento da força atuando sobre uma área de contato menor. Com a mudança na biomecânica, a cartilagem é submetida a um estresse decorrente do aumento na tensão, resultando na liberação de enzimas como inerteleucina-1 (IL-1), IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α), as quais contribuem para destruição de condrócitos,

sinoviócitos e células inflamatórias que degradam os proteoglicanos da matriz (KING, 2017).

A inflamação contínua e o desgaste anormal provocam perda adicional de conformação normal das articulações resultando em alterações degenerativas posteriores (osteofitose, esclerose óssea acetabular, espessamento do colo femoral, fibrose da cápsula articular e subluxação da cabeça femoral) (FRIES; REMEDIOS, 1995; SOUZA; TUDURY, 2003).

Em geral as causas da patologia são complexas e ainda não totalmente compreendidas. Um consenso sobre os fatores etiológicos, envolve a expressão de fatores genéticos e ambientais (fenotípicos) (BRASS, 1989). O fenótipo de um cão é determinado pelo seu genótipo em combinação com a influência de fatores ambientais externos (KING, 2017). Assim, o desenvolvimento da afecção em indivíduos afetados pode ser modificada por influências ambientais que não causam DCF, mas alteram as características de manifestação e sua gravidade e dessa forma, dois indivíduos com a mesma carga genética podem diferir quando a manifestação da doença (FRIES; REMEDIOS, 1995). Além disso, o envolvimento de genes recessivos demonstrados por MAKI et al. (2004), pode explicar o fato de animais negativos para a DCF ao exame radiográfico, produzirem filhos displásicos.

A expressão genética no desenvolvimento da DCF tem sido amplamente estudada em vista das características hereditárias relacionadas a afecção (KING, 2017). Já foram demonstrados, a existência de vários lócus de característica quantitativa (QTL) em diversos cromossomos relacionados a DCF . Da mesma forma, novos conceitos de herdabilidade e pressão de seleção tem sido adicionados aos estudos e métodos de controle (BLISS et al., 2002; PHAVAPHUTANON et al., 2009).

Além disso, os estudos genéticos são de extrema importância, pois os programas de controle baseados em avaliação de radiografias só avaliam os aspectos fenotípicos e assim, são eficientes para decisões de tratamento, mas não são um método confiável para selecionar cães com a composição genética mais resistente para reprodução em decorrência das características complexas da DCF (ZHANG et al., 2009; ZHU et al., 2009). Por outro lado, alguns estudos baseados na análise retrospectiva de dados epidemiológicos têm demonstrado a contribuição da seleção

fenotípica resultando em melhorias fenotípicas e genéticas (JANUTTA; HAMANN; DISTL, 2008; OBERBAUER; KELLER; FAMULA, 2017).

Os fatores ambientais exercem sua influência para maximizar ou minimizar a expressão fenotípica da DCF (ZHU et al., 2009) A nutrição é um dos fatores ambientais de maior importância no desenvolvimento da DCF embora seu envolvimento seja tão multifatorial como a própria afecção (FRIES; REMEDIOS, 1995). A taxa de crescimento com rápido ganho de peso, os métodos de alimentação, o consumo excessivo de ração e nutrientes específicos, o equilíbrio eletrolíticos na dieta e a suplementação de cálcio e vitamina C demonstraram influenciar de forma expressiva a DCF (RICHARDSON, 1992; FRIES; REMEDIOS, 1995).

Além disso, o envolvimento de hormônios (e.g. estrogênio, relaxina , insulina e o paratormônio) e o esforço excessivo em uma idade jovem foram propostos como potenciais contribuintes para o desenvolvimento de afecção (FRIES; REMEDIOS, 1995).

2.1.1 Diagnóstico da displasia coxofemoral

O diagnóstico da DCF é realizado a partir da associação de anamnese, sinais clínicos e exame físico, e a confirmação é feita através de exames de imagem sendo a radiografia o mais realizado (GINJA et al., 2009). Os sinais clínicos de cães com DCF são muito variáveis e embora haja uma forte correlação entre a intensidade da dor e os sinais clínicos, estes podem não se correlacionar com a morfologia óssea e alterações visíveis nos métodos de diagnóstico por imagem (DYCUS; LEVINE; MARCELLIN-LITTLE, 2017).

Comumente o surgimento, dos sinais clínicos ocorrem em duas condições: (1) em cães jovens com menos de um ano de idade, os quais apresentam claudicação em decorrência da instabilidade na ACF e sobrecarga nas áreas articulares, onde a dor é causada principalmente pela ruptura ou estiramento dos ligamentos redondos, ocorrência de sinovite e microfraturas acetabulares; e (2) animais adultos com mais de um ano, os quais apresentam sintomas decorrentes de DAD como anormalidades da marcha, rigidez, diminuição na amplitude de movimento, andar de coelho e dificuldade em subir escadas ou saltar sobre os obstáculos (FRIES; REMEDIOS, 1995; GINJA et al., 2010).

O exame físico permite avaliar se a claudicação ou desconforto tem localização na articulação coxofemoral ou em outra região anatômica (GINJA; PENA; FERREIRA, 2005). Uma série de testes clínicos tem sido utilizados no auxílio ao diagnóstico da DCF e podem ser separados em dois grupos: (1) testes com o animal consciente (e.g. teste da abdução e rotação externa, teste da extensão da ACF, teste de subluxação, teste da pressão dorsal e teste de estação bípede); e (2) testes com animal sedado ou anestesiado (e.g. testes de Ortolani, Bardens e Barlow) (SOUZA; TUDURY, 2003; GINJA; PENA; FERREIRA, 2005; GINJA et al., 2010).

Um amplo espectro de técnicas radiográficas podem ser usadas para diagnosticar DCF (FRIES; REMEDIOS, 1995). A radiografia ventrodorsal com os membros posteriores estendidos é a projeção radiográfica mais comumente utilizada para avaliar os quadris caninos (BUTLER; GAMBINO, 2017).

Pelo menos cinco organizações de triagem e controle da DCF com base em métodos radiográficos são reconhecidos mundialmente: (1) Fundação Ortopédica para Animais (OFA); (2) Federação Cinológica Internacional (FCI); (3) Associação Veterinária Britânica / Kennel Club (BVA/KC); (4) Programa de Melhoria Pensilvânia (PennHIP) e (5) Escore de Subluxação Dorsolateral (DLS) (VERHOEVEN et al., 2012).

A OFA foi fundada em 1966 com o objetivo de reduzir a incidência de DCF através da coleta / distribuição de informações e estabelecimento de programas de controle e financiamento de pesquisa (KELLER; DZIUK; BELL, 2011). A abordagem OFA é usada comumente nos Estados Unidos e no Canadá (ZHU et al., 2009; OFA, 2017). Os cães devem ter mais de 2 anos de idade e para avaliação confiável, é recomendável a restrição química profunda. Para avaliar a evidência de osteoartrite e anormalidades de conformação consistentes com displasia, são avaliados 9 locais da ACF e com base nesses critérios, os cães são divididos em 2 grupos de 3 graus: (1) conformação normal do quadril (excelente, bom e aceitável) e (2) conformação do quadril displásico (leve, moderada ou grave). ACF que não podem ser atribuídos a nenhum dos grupos são denominados transição e uma reavaliação após 6 meses é recomendada (OFA, 2017).

A FCI foi criada em 1911 como uma federação internacional de clubes de canil (HEDHAMMAR; INDREBO, 2011). O método de pontuação da FCI é usado na maioria

dos países do continente europeu, Rússia, América do Sul e Ásia (ZHU et al., 2009). A idade mínima para realização de radiografias é um ano para a maioria das raças e 18 meses para raças grandes e gigantes (FCI, 2017). O Comitê Científico da FCI propõe um sistema de pontuação de 5 graus de A (refletindo uma articulação do quadril normal) para E (indicando displasia grave do quadril) (Quadro 1). As notas são definidas de forma descritiva com base no grau de subluxação, forma e profundidade do acetábulo, sinais de doença articular secundária e ângulo Norberg (AN) (FLÜCKIGER, 2007; VERHOEVEN et al., 2012).

QUADRO 1. Classificação de graus de acordo com a FCI.

GRAUS	DESCRIÇÃO
A Nenhum sinal de displasia do quadril	A cabeça do fêmur e o acetábulo são congruentes, o espaço articular é estreito e regular e o AN é perto de 105°, mas nunca menos;
B Próximo das articulações normais do quadril	A cabeça femoral e o acetábulo são ligeiramente incongruentes e o ângulo Norberg é de cerca de 105 ° ou a cabeça femoral e o acetábulo são congruentes e o ângulo Norberg é inferior a 105 °.
C Displasia do quadril leve	A cabeça femoral e o acetábulo são incongruentes, o ângulo Norberg é de cerca de 100 ° e /ou há ligeira atenuação do rebordo acetabular cranio lateral. Não podem aparecer mais sinais de osteoartrose na borda acetabular craniana, caudal ou dorsal ou na cabeça e pescoço femoral.
D Displasia moderada do quadril	Existe incongruência óbvia entre a cabeça femoral e o acetábulo com subluxação. O ângulo Norberg é mais de 90 ° (apenas como referência). Estão presentes sinais osteoartríticos e/ou achatamento do bordo cranio lateral;
E Displasia do quadril grave	O ângulo Norberg é inferior a 90 °. Há graves alterações na articulação coxo-femoral como luxação ou subluxação. É notado um avanço evidente da borda acetabular craniana, observa-se a deformação da cabeça femoral (achatada ou em forma de cogumelo) ou outros sinais de osteoartrose.

O AN é a sobreposição do fêmur e é calculado medindo o ângulo entre uma linha que liga o centro da cabeça femoral entre os quadris esquerdo e direito e uma linha que liga o centro da cabeça femoral com a ponta lateral do rebordo acetabular craniano (NORBERG; OLSSONS, 1966; GASPAR et al., 2016; HENRIGSON; BUTLER; GAMBINO, 2017). Ângulos maiores indicam um acetábulo mais profundo e os quadris mais congruentes, enquanto ângulos menores são consistentes com displasia coxofemoral (BUTLER; GAMBINO, 2017). Normalmente, um ângulo de Norberg maior ou igual a 105 ° é considerado normal, enquanto ângulos inferiores a 105 ° são considerados displásicos em graus variados (VERHOEVEN et al., 2012)

O método BVA/KC é usado na Grã-Bretanha, Irlanda, Austrália e Nova Zelândia (ZHU et al., 2009). Nesse método, são avaliadas nove características anatômicas

diferentes (incluindo o NA) e um escore numérico é dado, sendo os pontos atribuídos a características anormais. Para oito das características, a pontuação pode ser de 0 a 6, e para uma, a pontuação pode ser de 0 a 5. A pontuação total para cada quadril é então calculada (intervalo de 0 a 53), assim como o índice total de quadril (intervalo de 0 a 106). Quanto maior a pontuação, maior o grau de displasia do quadril. Esta avaliação é feita por três júris de um grupo de radiologistas certificados (DENNIS, 2012).

O método PennHIP foi desenvolvido por pesquisadores da Universidade de Pensilvânia com o objetivo de desenvolver uma medida mais precisa da subluxação / frouxidão passiva da ACF (SMITH; BIERY; GREGOR, 1990). Três radiografias são avaliadas por radiologistas certificados por PennHIP: (1) Projeção ventrodorsal padrão para evidência de DAD; (2) Projeção de compressão para a congruência entre a cabeça femoral e o acetábulo; e (3) Projeção de distração, para a frouxidão máxima. A radiografia do quadril é utilizada para avaliar a articulação para sinais de osteoartrose ; a radiografia de compressão é usada para determinar a congruência das articulações (índice de compressão) e a radiografia de distração é usada para determinar o Índice de Distração (ID) (SMITH; BIERY; GREGOR, 1990; POWERS et al., 2010).

O ID é a proporção da distância entre os centros da cabeça femoral e o acetábulo e o raio da cabeça femoral. Quanto mais perto a pontuação é para 0, melhor o ajuste, ou seja, distração femoral mínima. Uma pontuação de 1 indica frouxidão severa e distração femoral (BIERY; GREGOR, 1990; KEALY et al., 1993; POWERS et al., 2010; SMITH; BUTLER; GAMBINO, 2017). Um ID de menos de 0,3 é considerado conformação ideal e assim, o quadril apresenta o mínimo de frouxidão/subluxação, bem como um risco mínimo de desenvolvimento futuro de OA. À medida que o ID aumenta, a quantidade de frouxidão aumenta. Geralmente, ID de 0,3 a 0,5, 0,5 a 0,7 e maior que 0,7 pode ser considerado como representando frouxidão leve, moderado e severo, respectivamente; mais recentemente, foi desenvolvidas tabelas de acordo com a cada raça (BIERY; GREGOR, 1990; KEALY et al., 1993; POWERS et al., 2010; SMITH; BUTLER; GAMBINO, 2017).

Embora as radiografias permaneçam como o método primário utilizado para a imagem de ACF caninas, a Tomografia Computadoriza (TC) e a Ressonância

Magnética (RM) possibilitam resultados superiores (SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Estudos demonstram a eficiência da TC principalmente quando realizada na posição de suporte de peso (similar ao posicionamento do cão em estação), o que gera um melhor indicador de frouxidão articular (MISUMI; SAKAMOTO, 2004; FUJIKI et al., 2007a; FUJIKI; KISHIMOTO et al., 2009). No entanto, as referências normais para esses valores de TC e a capacidade desses valores para prever a microdanos das articulações em uma população heterogênea de cães requer uma investigação mais aprofundada (BUTLER; GAMBINO, 2017).

Assim como a TC, a Ressonância Magnética (RM) de forma geral é usada com pouca constância para a avaliação de distúrbios ósseos do desenvolvimento em caninos. Fatores como custo, tempo, perícia requerida e necessidade de anestesia geral provavelmente justificam a pouca frequência da aplicação desta modalidade em relação ao seu uso em pacientes caninos para avaliação da DCF (BUTLER; GAMBINO, 2017).

Outras modalidades de diagnóstico também são relatadas em literatura. O osteófito curvilíneo caudal (ou linha de Morgan) e osteófitos circunferenciais da cabeça femoral são características radiográficas que foram relatadas no intuito de observar a formação precoce dos osteófitos que ocorrem antes do desenvolvimento de sinais mais característicos de OA (MORGAN, 1987; TÔRRES et al., 1999; MAYHEW et al., 2002; POWERS et al., 2004; RISLER et al., 2009). No entanto, esses sinais radiográficos ainda não foram adotados por nenhuma organizações de triagem (BUTLER; GAMBINO, 2017).

A ultrassonografia também é descrita, porém apresenta resultados variáveis (O'BRIEN et al., 1997; ADAMS, 2000; ROCHA; TÔRRES, 2007) os quais dependem de fatores como idade do animal e operador. Assim, não é rotineiramente utilizada (BUTLER; GAMBINO, 2017).

2.1.2. Tratamento da displasia coxofemoral

Os cães com DCF têm uma ampla gama de opções de tratamento potencialmente disponíveis que podem ser divididos em conservadores ou cirúrgicos (SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Os fatores que influenciam a tomada de decisão

incluem idade na apresentação da lesão, gravidade dos sinais clínicos, gravidade das alterações radiográficas, comportamento do paciente, presença de doença clínica ou ortopédica intercorrente e restrições financeiras (ANDERSON, 2011).

2.1.2.1 Tratamento conservador

O desenvolvimento de um protocolo de gestão conservador para DCF, deve envolver uma abordagem multimodal, adaptada individualmente para cada animal e deve também, ser reavaliado periodicamente e ajustado conforme necessário, pois as necessidades de um paciente mudam com o tempo (HARPER, 2017).

Em animais jovens com frouxidão e dor articular, mas sem evidência radiográfica de OA, a abordagem de tratamento é controversa (FRIES; REMEDIOS, 1995; ANDERSON, 2011). O manejo conservador pode ser efetivo no curto prazo, mas o desenvolvimento progressivo da DCF pode ocorrer e sinais clínicos podem se manifestar em uma idade mais avançada (REMEDIOS; FRIES, 1995).

O tratamento conservador é concentrado na manutenção do controle e conforto da dor e ao mesmo tempo, retardar as alterações degenerativas secundárias e melhorar a amplitude de movimento articular e massa muscular (COOK; TOMLINSON; CONSTANTINESCU, 1996; DYCUS; LEVINE; MARCELLIN-LITTLE, 2017). Consiste em uma combinação de controle nutricional e de peso, restrição de exercício, medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), além de terapias físicas (ANDERSON, 2011).

A manutenção do peso corporal ideal tem sido considerada um dos métodos mais eficazes para reduzir os sinais associados à DCF e OA (SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Vários relatos de longo prazo indicam que cães de diversas idades submetidos a restrição alimentar de 25% demonstraram a melhoria radiográfica e a uma significativa redução da prevalência de DCF (KEALY et al., 1992, 1997, 2000; SMITH et al., 2006). Entretanto um estudo realizado por Lopez et al (2006) acompanhando o aumento de peso de cães de 6 a 15 semana com acesso a dieta *ad libitum* não observaram impacto adverso na frouxidão da ACF às 16 semanas pelo método PennHip.

Outro fator relacionado ao desenvolvimento da DCF é o exercício, o qual é importante para o controle de peso, para a manutenção da massa muscular, além de contribuir para a saúde geral, e assim pode auxiliar no controle dos sinais clínicos de OA (COOK; TOMLINSON; CONSTANTINESCU, 1996).

Um estudo de fatores de risco para o desenvolvimento de DCF em 4 grandes raças na Noruega identificou que filhotes caminhando nas escadas desde o nascimento até os 3 meses de idade apresentaram aumento da incidência. Por outro lado, atividade fora da coleira durante o mesmo período, desempenhou um papel protetor. Os pesquisadores propuseram que o exercício fora da coleira no início da vida pode resultar em aumento do desenvolvimento muscular e força na área do quadril (KRONTVEIT et al., 2012b). Da mesma forma, o exercício durante o crescimento influenciou o tempo até o início dos sinais clínicos conforme relatado por KRONTVEIT et al. (2012a).

No entanto, uma pesquisa sistemática na literatura de 14 bancos de dados eletrônicos incluindo 4000 trabalhos, realizada para identificar intervenções que usaram terapia de exercícios como uma modalidade de tratamento para DCF, demonstrou informações limitadas sobre a eficácia do exercício. Nenhum estudo encontrou o nível de exercício recomendado para indivíduos e, assim, considerou-se a necessidade de estudos mais acurados a fim de estabelecer exercícios e níveis de exposição necessários para obter ganhos a longo prazo no manejo da DCF (MCNAIR et al., 2009).

Harper (2017) destaca ainda, a importância de modificações ambientais no manejo conservador de cães portadores de DCF. Segundo o autor, medidas como limitar o acesso a pisos escorregadios através do uso de tapetes de borracha, piso de concreto ou grama; uso de rampas de acesso a veículos e móveis; e uso restrito de escadas são benéficos e não devem ser subestimados.

Os corticosteroides administrados por via oral ou local por injeção intra-articular reduzem a inflamação e conseqüentemente promovem o alívio da dor e nos sintomas clínicos. Entretanto, seu uso é controverso pois quando usado em doses elevadas ou com frequência, podem potencialmente diminuir síntese de colágeno e proteoglicanos e assim, causar a degeneração da matriz cartilágnea (REMEDIOS; FRIES, 1995).

Os AINEs são comumente relatados como principal forma de controle de dor e inflamações em animal com DCF. Deve ser dada preferência aos medicamentos que economizam COX-1, como por exemplo carprofen, deracoxib, etodolac e meloxicam, por terem menos efeitos adversos. Os AINEs são frequentemente combinados com outros fármacos no intuito de diminuir a dor e maximizar o conforto. Os principais utilizados em associações incluem o tramadol, a gabapentina, antidepressivos tricíclicos (amitriptilina e clomipramina), acetaminofeno e codeína (HARPER, 2017).

Agentes condroprotectores, incluindo glicosaminoglicanos polissulfatados (GAG-polissulfatados), polissulfato de pentosano e sulfato de condroitina e glucosamina, têm sido utilizados para tratar lesões de cartilagem em cães (HARPER, 2017). Embora o seu mecanismo de ação não esteja completamente entendido, acredita-se que esses agentes estimulam a síntese de proteoglicanos, de ácido hialurônico, além de inibir proteases no líquido sinovial (REMEDIOS; FRIES, 1995).

Os GAG-polissulfatados são comercializados na forma injetável para injeções intramusculares ou intra-articulares. Um estudo com base na aplicação de GAG-polissulfatados duas vezes por semana em cães de 6 semanas a 8 meses, com predisposição a DCF demonstrou cães no grupo tratado não exibiram sinais de subluxação da cabeça femoral aos 8 meses, enquanto que 4 dos 8 cães no grupo controle demonstraram (LUST et al., 1992). Entretanto, outros autores consideram seu uso controverso (CHAMCHAN; WAIKAKUL; PUKANCHANA-MO-RAKOTE, 1989; LUST et al., 1992; FUJIKI et al., 2007b).

Outros métodos de gestão não cirúrgica foram investigados para o tratamento de lesões articulares e incluem acupuntura, implantação de grânulos de ouro (JAEGER et al., 2007; DEISENROTH; NOLTE; WEFSTAEDT, 2013) e ainda terapia de ondas de choque (shockwave) (DAHLBERG et al., 2005; HSU et al., 2017; MUELLER et al., 2007). Entretanto, a experiência e proficiência requerida para a realização da acupuntura e o acesso limitado a terapia com uso de shockwave na Medicina Veterinária constituem entraves para o avanço desses métodos de tratamento. Além disso, a ocorrência de resultados contrastantes apontam para a necessidade de mais investigações (KIRKBY; LEWIS, 2012; SCHACHNER; LOPEZ, 2015).

2.1.2.2 Tratamento Cirúrgico

São relatados em literatura diversos protocolos cirúrgicos de uso no tratamento da DCF (DYCUS; LEVINE; MARCELLIN-LITTLE, 2017). Os procedimentos cirúrgicos com maior uso voltados a prevenção do aparecimento da DCF e OA são a sinfisiodese púbica juvenil (SPJ) e a osteotomia tripla da pelve (OTP) (REMEDIOS; FRIES, 1995; SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Nos cães adultos com alterações nas ACF, o manejo conservador efetivo depende da gravidade da DAD. Os tratamentos cirúrgicos propostos com melhores resultados para displasia de quadril clinicamente debilitante incluem prótese de quadril (PT), denervação acetabular ou a exérese da cabeça e colo femorais (REMEDIOS; FRIES, 1995; SCHACHNER; LOPEZ, 2015). Tanto a SPJ como a OTP são indicadas para aumentar a cobertura da cabeça femoral por rotação do acetábulo (MANLEY et al., 2007; DYCUS; LEVINE; MARCELLIN-LITTLE, 2017).

A SPJ é recomendada para cães de 15-20 semanas de idade com risco de desenvolver DCF (PATRICELLI et al., 2002) embora, um estudo tenha demonstrado os melhores resultados quando realizada em filhotes com 12 a 16 semanas de idade (DUELAND et al., 2010). A partir da realização de SPJ observou-se uma melhoria nos sinais clínicos relacionados a conformação das ACF, e assim, suspensão do desenvolvimento da DCF. Os resultados foram considerados satisfatórios em cães com graus leves ou moderados de DCF, enquanto foi menos efetivo ou ineficaz em formas mais severas (PATRICELLI et al., 2002; VEZZONI et al., 2008; DUELAND et al., 2010). Além disso, condições ambientais, principalmente a nutrição, podem ser desfavoráveis aos resultados da SPJ (VEZZONI et al., 2008).

Cães com idade entre 5 a 12 meses, com sinais clínicos de DCF, sinal de Ortolani positivo e ausência de sinais radiográficos de OA, são passíveis do tratamento cirúrgico com OTP (JOHNSON et al., 1998; MANLEY et al., 2007). Uma melhor estabilidade biomecânica, boa evolução clínica e a minimização na progressão da OA, são resultados esperados nesse procedimento (MCLAUGHLIN et al., 1991; JOHNSON et al., 1998; BOROSTYANKOI et al., 2003; YAYGINGÜL; SARIERLER, 2013). Complicações foram relatadas após a OTP, incluindo constipação devido ao estreitamento do canal pélvico, lesão do nervo ciático e podendo (SLOCUM; SLOCUM, 1992), complicações vasculares (VEZZONI, 2017), além do

desenvolvimento de OA em alguns cães (MANLEY et al., 2007; ZIEGLER; KOPF, 2016).

A reposição total do quadril também referida como prótese de quadril (PT), é considerada um procedimento cirúrgico de resgate, que efetivamente proporciona alívio na dor em cães com OA resultantes da DCF (ANDERSON, 2011; ALLEN, 2012; SCHILLER, 2017). Sistemas cimentados ou não, estão comercialmente disponíveis. Além desses, existem também os sistemas híbridos (ANDERSON, 2011; GEMMILL et al., 2011; ALLEN, 2012; FITZPATRICK et al., 2014; HUMMEL, 2017). Nos sistemas cimentados, os implantes femorais e acetabulares são cimentados ao osso. Já nos sistemas sem cimento, o osso cresce dentro ou sobre a prótese (SCHACHNER; LOPEZ, 2015).

Embora pesquisas que comparem diretamente com outros procedimentos cirúrgicos sejam limitadas, a reposição a PT é referida como a técnica mais efetiva no tratamento de cães portadores da afecção resultando em um bom retorno à função (REMEDIOS; FRIES, 1995; HUMMEL, 2017). No entanto, complicações incluindo luxação, infecção, afrouxamento asséptico, fratura femoral e granuloma de cimento foram relatados (OLMSTEAD, 1987; CONZEMIUS; VANDERVOORT, 2005; ALLEN, 2012).

A exérese da cabeça e colo femorais é comumente realizada para aliviar a dor secundária à DAD (HARPER, 2017). Esse método cirúrgico é descrito desde os anos 90 (MONTGOMERY et al., 1987; LIPPINCOTT, 1992) e tem o objetivo de limitar o contato ósseo entre a cabeça femoral e o acetábulo além, de permitir a formação de uma articulação falsa (pseudoartrose) composta de tecido fibroso denso (ANDERSON, 2011; HARPER, 2017). É considerado um procedimento de salvamento melhorando a qualidade de vida do paciente ao permitir o movimento livre de dor durante a atividade moderada (HARPER, 2017). O peso é frequentemente relatado em literatura como principal influenciador dos resultados. Cães de maior porte (acima de 20 kg) apresentam resultados inferiores a cães menores (LIPPINCOTT, 1992). Infelizmente, a maioria dos cães que apresentaram DCF tem mais de 20 kg (ANDERSON, 2011). No entanto, a significância do peso é questionada por MONTGOMERY et al. (1987). Da mesma forma, (FATTAHIAN et al., 2012) afirmam que a idade é mais determinante que o peso.

A técnica de denervação coxofemoral é realizada em cães displásicos, como um método paliativo no intuito de aliviar a dor (SILVA et al., 2012; FRANÇA et al., 2015). Abordagens aberta ou fechada são relatadas com poucas complicações potenciais (BRANCO ROCHA et al., 2013; FRANÇA et al., 2015), embora a OA esteja susceptível de progredir (ANDERSON, 2011).

Outros procedimentos menos usuais foram relatados em literatura, incluindo pectineotomia e osteotomia intertrocantérica. A pectineotomia consiste na ressecção do músculo pectíneo resultando na diminuição da tensão sobre a cápsula da articular e consequentemente, da dor. Algumas complicações relatadas incluem a formação de hematoma pós-operatório e a possibilidade de formação de fibrose no local da incisão (CARDINET; GUFFY; WALLACE, 1974; VAUGHAN; JONES; LANE, 1975). Assim como a denervação, esse procedimento não melhora a estabilidade articular e assim, o animal continua susceptível ao desenvolvimento de OA (ANDERSON, 2011).

O objetivo da osteotomia intertrocantérica é diminuir o estresse biomecânico na articulação coxofemoral, aliviando a dor associada à DCF. Apesar de bons ou excelentes resultados terem sido relatados em até 90% dos cães jovens e adultos tratados, o procedimento também não previne a progressão da OA e raramente é realizado (PRIEUR, 1987; BRADEN; PRIEUR; KANEENE, 1990; BRADEN; PRIEUR, 1992; ANDERSON, 2011).

2.2 CÉLULAS-TRONCO

Nos últimos 20 anos, foi dada uma atenção considerável à pesquisa sobre a biologia das células-tronco (CT) e como resultado, houve um aumento significativo na compreensão de suas características e, ao mesmo tempo, do potencial terapêutico para sua aplicação em diferentes áreas, tanto em seres humanos quanto em animais (MARKOSKI, 2016).

As CT podem ser classificadas pelo seu potencial de desenvolvimento como totipotencial (capaz de dar origem a todos os tipos de células embrionárias e extraembrionárias), pluripotencial (capaz de dar origem a todos os tipos de células embrionárias), multipotencial (capaz de dar origem a um grande número de linhagens celulares), oligopotenciais (capazes de dar origem a um número mais limitado de

linhagens celulares do que as células multipotenciais) e unipotenciais (capazes de originar apenas uma linhagem celular específica) (WAGERS; WEISSMAN, 2004; VALLONE et al., 2013; WHITWORTH; BANKS, 2014).

De um modo geral, as células-tronco são divididas em duas classes principais: embrionárias (pluripotentes) e adultas (multipotentes). As células-tronco embrionárias (CTE) são derivadas da massa celular interna do embrião em fase de blastocisto e têm o potencial de se diferenciar em todos os tipos de células que constituem o indivíduo adulto (WHITWORTH; BANKS, 2014). O uso de CTE ainda é controverso principalmente por relatos de instabilidade do genoma causada por passagens *in vitro* (TOSCA et al., 2015) e pela possibilidade eminente da formação de teratoma *in vivo* (SOLTER, 2006). Além disso, o uso nos seres humanos envolve ainda questões éticas e religiosas (WHITWORTH; BANKS, 2014).

Uma outra categoria de CT, que não é considerada embrionária ou adulta, são as células-tronco pluripotente induzidas (CTPI). Estas CT são únicas na medida em que são essencialmente fabricadas a partir de células adultas e diferenciadas através de um processo de reprogramação (TAKAHASHI; YAMANAKA, 2006). O emergente estudo das CTPI promete o desenvolvimento de terapias celulares autólogas para doenças degenerativas, sem as preocupações associadas às CTE (WHITWORTH; BANKS, 2014).

Uma investigação recente em cães revelou que as CTPI são fenotipicamente estáveis, imunologicamente potentes e seguras em relação a mutagênese (CHOW et al., 2017). Entretanto, há um consenso na comunidade científica sobre a necessidade de estudos mais aprofundados e assim, antes que as CTPI possam ser usados com segurança na terapia celular, vários obstáculos como a possibilidade de mutagênese do genoma ou aberrações epigenéticas, precisam ser superados (YE; SWINGEN; ZHANG, 2013; KUMAR; ANAND; KUES, 2017).

As CT adultas, em contraste, desempenham um papel na manutenção e reparo de tecidos. As CT adultas que possuem o maior potencial terapêutico e, portanto, atraíram interesse significativo na pesquisa, são as células-tronco mesenquimais (CTM) (WHITWORTH; BANKS, 2014). As CTM foram denominadas células estromais mesenquimatosas multipotentes de acordo com a Sociedade Internacional de Terapia Celular (SITC) (HORWITZ et al., 2005). A SITC também propôs critérios mínimos para

definição de CTM em seres humanos: (1) devem ser aderentes ao plástico quando mantidos em condições padrão de cultura; (2) devem expressar (CD – *Cluster of differentiation*) CD105, CD73 e CD90 e não devem expressar as moléculas de superfície CD34, CD45, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 α e HLA-DR; (3) devem diferenciar *in vitro* em osteoblastos, condroblastos e adipócitos (DOMINICI et al., 2006).

Mais recentemente, com as crescentes pesquisas relacionadas as CTM derivadas do tecido adiposo (AD-CTM) e fração vascular estromal (FVE), a SITC em conjunto com a Federação Internacional de Terapêuticas e Ciências Adiposas, estabelecerem critérios para caracterização de ambas. A AD-CTM podem ser diferenciadas das CTM derivadas da Medula óssea (MO-CTM) pela positividade para CD36 e negatividade para CD106 (BOURIN et al., 2013). A FVE é uma mistura que inclui células precursoras endoteliais, células reguladoras T, células musculares lisas, células-tronco mesenquimatosas, macrófagos e pré-adipócitos (GUO et al., 2016; NGUYEN et al., 2016). Na FVE, as células são identificadas a partir da expressão positiva para CD 34, e negativo para CD45, CD235a, CD31 (BOURIN et al., 2013).

As CTM apresentam relativa facilidade de obtenção em tecidos adultos, baixo risco de formação de tumor após o transplante (VOLK; THEORET, 2013), além da capacidade de se diferenciar em vários tipos de células, incluindo osso, cartilagem, músculo e tecido adiposo (PITTENGER et al., 1999). As CTM são isoladas principalmente da medula óssea MO-CTM e tecido adiposo AD-CTM (VOLK; THEORET, 2013) mas relatos recentes descrevem presença das CTM em praticamente todo o corpo (DA SILVA MEIRELLES; CHAGASTELLES; NARDI, 2006).

Condições como facilidade de coleta (KERN et al., 2006; BIEBACK et al., 2008), maior número de CTM (WEBB; QUIMBY; DOW, 2012) e maior taxa de proliferação (KERN et al., 2006; VOLK; WANG; HANKENSON, 2012) das AD-CTM, em contraste com as MO-CTM, as quais apresentam coleta relativamente invasiva, declínio do número de CTM e declínio do potencial de diferenciação com o aumento da idade (KERN et al., 2006; VOLK; WANG; HANKENSON, 2012), tornaram as AD-CTM potencialmente atraentes.

Semelhante a outras populações de CT, inicialmente pensou-se que o principal potencial das AD-CTM para abordagens de medicina regenerativa estava intimamente

relacionado à sua capacidade de diferenciação (SALGADO et al., 2010). Embora isso seja verdade, tem havido um crescente corpo de literatura descrevendo os efeitos tróficos de AD-CTM sobre a proteção, sobrevivência e diferenciação de variedade de células e tecidos endógenos (DA SILVA MEIRELLES et al., 2009; SALGADO et al., 2010). Esses efeitos podem explicar o papel positivo das AD-CTM no tratamento de doenças osteoarticulares (KOH; CHOI, 2012; JO et al., 2014; KIM et al., 2015) ao mesmo tempo em que estudos questionaram seu potencial de condrogenese e osteogênese comparado com as MO-CTM (IM; SHIN; LEE, 2005; NIEMEYER et al., 2010). Assim, o potencial das CTM, apesar de ainda não totalmente compreendidas, não deve ser subestimado.

Segundo DA SILVA MEIRELLES et al. (2009), secreção de uma ampla gama de moléculas bioativas é considerada como o principal mecanismo responsável pelos resultados terapêuticos das CTM. Os autores dividem esses efeitos em seis categorias principais: (1) imunomodulação; (2) antiapoptose; (3) angiogênese; (4) suporte do crescimento e diferenciação de células locais e células progenitoras; (5) anti-fibrose; e (6) quimiotaxia.

Os efeitos imunomoduladores dos CTM consistem na inibição da proliferação de linfócitos T CD8 +, CD4 +, células naturais (NK), supressão da produção de imunoglobulina por células plasmáticas, inibição da maturação de células dendríticas (CDd) e estimulação da proliferação de células T reguladoras. A secreção de prostaglandina E2 (PGE-2), antígeno leucocitário humano-G (HLA-G5), fator de crescimento de hepatócitos (HGF) óxido nítrico sintase induzível (iNOS), indolamina 2,3-dioxigenase (IDO), fator de crescimento transformante (TGF- β), fator inibidor da leucemia (LIF) e Interleucina-10 (IL-10) contribui para esse efeito. As CTM limitam a apoptose e as principais moléculas bioativas responsáveis por isso são o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), HGF, fator de crescimento similar a insulina (IGF- 1), IL-1, TGF- β e fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) (DA SILVA MEIRELLES et al., 2009; SALGADO et al., 2010).

Além disso, as CTM estimulam a angiogênese local por secreção de moléculas de matriz extracelular, VEGF, IGF- 1, fator de crescimento placentário (MCP-1), fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF) e IL-6 e também estimulam a mitose do progenitor intrínseco de tecido ou células-tronco por secreção de SCF, LIF, fator

estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF), fator 1 derivado das células do estroma (SDF-1) e angiopoietina-1. HGF e bFGF produzidos por CTM contribuem para a inibição da fibrose. Finalmente, um grupo de pelo menos 15 quimiocinas produzidas por CTM pode provocar a migração de leucócitos para a área lesada (DA SILVA MEIRELLES et al., 2009, MARKOSKI, 2016).

Além das clássicas técnicas de implantação de CT na terapia regenerativa, juntamente com o advento da engenharia tecidual surgiu uma nova possibilidade de utilização das CT, a produção de arcabouços, hidrogéis e outras matrizes com o intuito de organizar as células de forma tridimensional, mimetizando assim, a completa organização dos tecidos (WHITWORTH; BANKS, 2014). Esta tecnologia demonstrou eficácia em estudos realizados em ratos, cães, cavalos e humanos (SEO et al., 2013).

2.2.1. Células-tronco mesenquimais em afecções articulares

Diversos relatos demonstram o uso das CT em pessoas e animais com diversas doenças e afecções, e paralelamente, diversas empresas em todo mundo passaram a fornecer CT de forma comercial (MARKOSKI, 2016).

No âmbito das doenças e afecções articulares na medicina veterinária, são relatados trabalhos que destacam papel das CTM, principalmente relacionada a OA, em diversas espécies: cães (BLACK et al., 2007, 2008) , equinos (SEO et al., 2013) caprinos (MURPHY et al., 2003), ovinos (KANDEL et al., 2006) coelho (DESANDO et al., 2013; SHAO et al., 2006) porco da índia (SATO et al., 2012) e camundongo (DIEKMAN et al., 2013). Entretanto, poucos trabalhos têm explorado o uso de CT em condições debilitantes relacionadas diretamente a ACF e principalmente, relacionado a DCF.

Um trabalho recente buscou investigar a segurança e eficácia da infusão intra-articular de MO-CTM em pacientes humanos com defeitos da cartilagem articular nas ACF. Os pacientes foram avaliados através de pontuação do quadril para dor, rigidez, função física e amplitude de movimento. Com base nos resultados, os autores concluíram que o tratamento provou ser seguro e clinicamente eficaz na restauração da função do quadril e amplitude de movimento. Além disso, não foram observados alterações nos sinais radiográficos após o tratamento (MARDONES et al., 2017).

Outro ensaio demonstrou os resultados de injeções intra-articulares de MO-CTM autólogas associada a artroscopia do quadril, em pacientes humanos, para o choque femoroacetabular (FAI). Os resultados demonstraram a melhoria na qualidade de vida e o escore funcional em pacientes com lesões de cartilagem (MARDONES et al., 2016).

Da mesma forma, o uso de MO-CTM autólogas associação a perfuração na cabeça femoral (descompressão do núcleo) em pacientes humanos com necrose asséptica da cabeça do fêmur foi relatada com sucesso (CHANG et al., 2010; XU et al., 2017). Uma revisão recente de 7 trabalhos, sugeriu que a associação melhorou o estado das cabeças femorais e reduziu a necessidade de artroplastia, principalmente quando realizadas nos estágios iniciais (PAPAKOSTIDIS et al., 2016).

VILAR et al. (2014), realizaram um estudo com o objetivo de usar uma plataforma de força para medir a eficácia da administração de AD-CTM associadas a plasma rico em fatores de crescimento (PRFC) intra-articular visando a melhoria da função dos membros em cães com OA grave nas ACF. Ao final de 6 meses de avaliação, o estudo demonstrou objetivamente que a terapia resultou em claudicação reduzida em cães com OA nas ACF em comparação com o grupo controle.

BLACK et al. (2007), realizaram um ensaio clínico randomizado, cego e controlado com placebo, para avaliar a eficácia da terapia da FVE derivado do tecido adiposo em cães OA crônica nas ACF. Os resultados mostraram que cães tratados com FVE derivada do tecido adiposo tiveram resultados significativamente melhorados nos escores de claudicação, dor e amplitude de movimento em comparação com cães de controle.

Em outro trabalho recente, objetivou-se comparar a regeneração cartilaginosa da articulação coxofemoral de coelhos, com e sem o transplante de AD-CTM autólogas após indução de OA. Foram realizadas avaliações histopatológicas aos 30, 60 e 90 dias após a aplicação. Os resultados deste ensaio indicaram que as AD-CTM autólogas melhoraram a qualidade do tecido de reparo, de acordo com os critérios da escala semi-quantitativa Sociedade Internacional para reparo da cartilagem (SIRC) (COELHO, 2017).

Diversas revisões foram feitas na tentativa de filtrar e identificar dentre toda a diversidade de estudos, dados que efetivamente demonstrem a capacidade das CT como forma de terapia celular. FILARDO et al., (2016) e AFIZAH; HUI (2016) realizaram revisões na base de dados do PubMed, no período de (2000 a 2015) e (2002 a 2016) respectivamente, onde foram selecionados estudos que usaram CTM para o tratamento de afecções na cartilagem. Dos 1639 trabalhos encontrados por FILARDO et al., (2016), 60 foram relacionados. Desses, 20 usaram MO-CTM e 17 AD-CTM. AFIZAH; HUI (2016) listou 18 trabalhos de níveis variados e destacou uma rápida busca na plataforma *clinicaltrials.gov* onde foram listados 50 ensaios.

De modo geral, esses e outros autores destacaram pelo menos 5 pontos no que se refere ao uso de CTM: (1) resultados promissores com claro benefício clínico, em graus variados na maioria dos estudos, independentemente da fonte de CT (DIEKMAN; GUILAK, 2013; AFIZAH; HUI, 2016; MARDONES; LARRAIN, 2016); (2) complicações ou efeitos adversos mínimos (AFIZAH; HUI, 2016; DIEKMAN; GUILAK, 2013; GOPAL; PEETERS et al., 2013); (3) número relativamente grande de estudos que investigam a terapia com CTM em lesões induzidas enquanto um número pequeno de relatórios descreve a terapia para cães, gatos e cavalos naturalmente afetados (WHITWORTH; BANKS, 2014); (4) dificuldade de comparar e contrastar os resultados dos estudos em decorrência dos diferentes métodos de isolamento e expansão, caracterização e aplicação clínica (DIEKMAN; GUILAK, 2013); e (5) novos trabalhos mais padronizados que otimizam a eficácia terapêutica demonstrada nesses estudos iniciais, são necessários (DIEKMAN; GUILAK, 2013; PEETERS et al., 2013; MARDONES; LARRAIN, 2016; AFIZAH; HUI, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a eficácia da utilização intra-articular de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo (AD-CTM) alógenas no tratamento da displasia coxofemoral (DCF) de cães.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a evolução clínica durante locomoção e exame físico-ortopédico de cães portadores de DCF, após a utilização intra-articular de células-tronco mesenquimais alógenas provenientes de tecido adiposo.

- Avaliar a evolução, pela percepção dos proprietários através do Índice de Dor Crônica de Helsinque, de cães portadores de DCF após a utilização intra-articular de células-tronco mesenquimais alógenas provenientes de tecido adiposo.

CAPÍTULO 1
USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE
TECIDO ADIPOSEO (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA
COXOFEMORAL EM CÃES (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)

1 **USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS DERIVADAS DE**
2 **TECIDO ADIPOSEO (AD-CTM) NO TRATAMENTO DA DISPLASIA**
3 **COXOFEMORAL EM CÃES (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)**

4
5 **RESUMO**

6 O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da aplicação intra-articular de células-tronco
7 mesenquimais alógenas derivadas do tecido adiposo (AD-CTM) no tratamento de cães
8 portadores de displasia do coxofemoral (DCF). Doze cães de ambos os sexos, diferentes
9 raças, idades e peso, portadores de graus variados de DCF comprovada em radiografia e
10 livres de quaisquer outras alterações clínicas ou ortopédicas, foram utilizados no estudo.
11 Todos os cães foram submetidos a avaliação ortopédica nos dias 0, 30, 60 e 90 após
12 aplicação de AD-CTM. Além disso, os proprietários preencheram a um questionário,
13 baseado no Índice de dor crônica de Helsinque (IDCH) nos mesmos intervalos. Os dados
14 obtidos foram transformados em dados ordinais, de acordo com o grau de intensidade de
15 cada variável observada no estudo e o teste de Friedman foi usado com comparações
16 múltiplas para verificar a resposta obtida. Em comparação com o dia 0, observou-se
17 melhora significativa na avaliação em locomoção e físico-ortopédica assim como na
18 avaliação dos proprietários pelo IDCH ao longo dos 90 dias. Os resultados demonstraram
19 melhora considerável na dor e claudicação, e conseqüentemente na melhoria da qualidade
20 de vida dos cães estudados. As AD-CTM mostraram ser uma alternativa promissora para
21 o tratamento da DCF, embora mais estudos sejam necessários.

22
23 **ABSTRACT**

24 This research aimed to assess the efficacy of intra articular injections of allogeneous
25 mesenchymal stem cells derived from adipose tissue (MST-AD) in the treatment of
26 dogs with hip dysplasia. 12 dogs of different breeds, ages, weights and degrees of hip
27 dysplasia, diagnosed with radiography exams and otherwise healthy were used in this
28 study. An orthopedic assessment was performed in all dogs days 0, 30, 60 and 90 after
29 infusion of (MST-AD). The owners answered a questionnaire based on the Helsinque
30 chronic pain index on the same days. The data obtained was turned into ordinal data,
31 according to the intensity of each variable observed at the study and applied Friedman
32 test in multiple comparisons to verify the results obtained. In comparison with day 0, there

33 was significant improvement in orthopedic and gait assessment and owners'
34 questionnaire answers throughout the 90 days. The results have shown significant
35 improvement in pain and lameness and, hence, in the welfare and wellbeing of the dogs
36 involved. Even though further research is required, MST-AD therapy seems to be an
37 encouraging alternative for the treatment of hip dysplasia in dogs.

38

39 INTRODUÇÃO

40 A displasia coxofemoral (DCF) é uma doença hereditária, caracterizada pelo
41 desenvolvimento anormal, instabilidade e graus variados de frouxidão das articulações
42 coxofemorais (ACF) (Fries e Remedios, 1995). Em longo prazo, promove desgaste das
43 superfícies articulares, remodelação progressiva das estruturas do quadril e subsequente
44 desenvolvimento de doença degenerativa (DAD) (Ginja *et al.*, 2010).

45 É uma afecção com características limitantes que comumente causa dor e graus
46 variáveis de incapacidade física. Ocorre com maior frequência em cães de médio e grande
47 portes, embora cães de todos os tamanhos estejam susceptíveis (Fries e Remedios, 1995).
48 As causas multifatoriais, com envolvimento de aspectos genéticos e ambientais, limitam
49 as formas de controle e tratamento (Schachner e Lopez, 2015). O diagnóstico da DCF é
50 realizado por meio de anamnese associada a sintomatologia clínica, exame clínico
51 ortopédico e confirmado por exames de imagem (Ginja *et al.*, 2010).

52 A escolha por tratamento conservador ou cirúrgico depende da idade do paciente
53 e da gravidade da doença. O tratamento conservador (e.g. restrição do exercício, perda de
54 peso, uso de analgésicos ou condroprotetores) é concentrado no controle da dor e retardo
55 da alterações degenerativas, porém, os resultados disponíveis em literatura são
56 controversos e demonstram eficiência questionável (Barr *et al.*, 1987; Farrell *et al.*, 2007).
57 Os tratamentos cirúrgicos, por sua vez, podem ser destinados a evitar a evolução da
58 afecção (e.g. sinfisiodese púbica juvenil ou osteotomia dupla ou tripla da pelve) ou
59 aplicados quando DAD já estiver instalada (e.g. prótese de quadril, desnervação
60 acetabular ou a exérese da cabeça e colo femorais) (Schachner e Lopez, 2015). Entretanto,
61 não há ainda um tratamento considerado padrão ouro (Ginja *et al.*, 2010; Bergh e
62 Budsberg, 2014).

63 Nesse contexto, a utilização de terapia celular no manejo de condições resultantes
64 da DCF, surge como uma nova alternativa. Estudos têm demonstrado a capacidade das

65 células-tronco mesenquimais (CTM) de se diferenciar em variados tecidos, além dos
66 efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores e imunossupressores. Assim, oferecem a
67 possibilidades de regeneração e manutenção da cartilagem articular e contribuem para
68 diminuição da dor e o aumento da funcionalidade articular (Whitworth e Banks, 2014).

69 O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito das AD-CTM alógenas no tratamento
70 de cães portadores de displasia coxofemoral, através da avaliação em locomoção e exame
71 físico-ortopédico, além da aplicação de um questionário no intuito de avaliar a percepção
72 dos tutores, denominado Índice de dor crônica de Helsinque (IDCH).

73

74 MATERIAIS E MÉTODOS

75 Para este estudo, após a aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais da
76 Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE), sob o nº
77 23082.010283/2017-97, foram selecionados cães portadores de displasia coxofemoral
78 provenientes do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco
79 (HOVET/UFRPE) e de serviços privados da Região Metropolitana do Recife.

80 Foram pré-selecionados 15 cães adultos (1,5 a 9 anos de idade), com peso corporal
81 entre 17 e 48kg, sendo 4 fêmeas e 11 machos, de raças variadas, todos portadores de
82 displasia coxofemoral bilateral, confirmada através de radiografia digital de acordo com
83 o método da Federação Cinológica Internacional (FCI), a qual propõe um sistema de
84 pontuação de 5 graus variando de A (refletindo uma articulação do quadril normal) até E
85 (indicando displasia grave do quadril). Durante a seleção foram anotados dados dos
86 animais, incluindo escore de condição corporal (ECC), com base no estabelecido por
87 Laflamme, (1997) o qual descreve graus variando de 1 (animal muito magro) a 9 (muito
88 pesado). Os cães foram submetidos a exame clínico, ortopédico e neurológico para
89 descartar qualquer doença ou alteração concomitante. Além disso, foram realizados
90 exames de hemograma, função renal e hepática, ecodopplercardiografia,
91 eletrocardiografia e aferição não invasiva da pressão arterial. Da mesma forma, foram
92 suspensos qualquer forma de tratamento conservador paralelo.

93 Para averiguação do efeito clínico das AD-CTM, foram realizadas avaliações
94 subjetivas, nos dias 0, 30, 60 e 90, através de parâmetros clínicos estabelecidos com base
95 em estudos publicados (Pollmeier *et al.*, 2006; Black *et al.*, 2007). Uma pontuação a partir
96 de escalas numéricas foi atribuído para cada parâmetro clínico. A avaliação foi dividida

97 em dois momentos (1) durante a locomoção (Fig 1) e (2) físico-ortopédica (Fig 2).
 98 Definiu-se como avaliação durante a locomoção a análise dinâmica (claudicação ao
 99 caminhar e ao trote, amplitude de movimento e capacidade funcional) e como avaliação
 100 física-ortopédica a avaliação estática em mesa emborrachada (com vistas a presença de
 101 dor durante extensão cranial, extensão caudal, flexão, rotação externa e abdução, bem
 102 como graus de atrofia muscular, crepitação articular e o teste de estação bípede). Optou-
 103 se por avaliar cada membro de forma separada no intuito de minimizar possíveis
 104 interferências (melhora ou piora) de um membro sobre o outro. Todas as avaliações foram
 105 feitas pelo mesmo profissional.

PARAMETROS CLÍNICOS	DEFINIÇÃO DA PONTUAÇÃO				
CLAUDICAÇÃO NA CAMINHADA	não detectada (1)	intermitente (2)	discreta e contínua (3)	moderada e contínua (4)	severa (5)
CLAUDICAÇÃO NO TROTE					
AMPLITUDE DE MOVIMENTO	sem limitações (1)	diminuição moderada na amplitude de movimento (2)	diminuição discreta na amplitude de movimento (3)		diminuição severa (4)
CAPACIDADE FUNCIONAL	atividade normal (1)	andar ligeiramente rígido só perceptível correndo (2)	andar rígido, dificuldade visível na deambulação ou corrida (andar de coelho) (3)	andar muito rígido, cão não quer caminhar ou correr, a menos que estimulado (4)	reluta em caminhar mesmo sendo estimulado (5)

106 Figura 1: Parâmetros clínicos utilizados na avaliação durante locomoção nos dias 0, 30, 60 e 90 após a
 107 aplicação de AD-CTM alógenas em cães portadores de DCF.

PARAMETROS CLÍNICOS	DEFINIÇÃO DA PONTUAÇÃO				
DOR A EXTENSÃO CRANIAL	ausente (1)	moderada (2)	discreta (3)	severa (4)	muito severa (5)
DOR A EXTENSÃO CAUDAL					
DOR A FLEXÃO					
DOR A ROTAÇÃO EXTERNA					
DOR A ABDUÇÃO					
ATROFIA MUSCULAR					
CREPITAÇÃO ARTICULAR					
TESTE DE ESTAÇÃO BÍPEDE	sem alterações (1)	capaz expressando desconforto (2)			incapaz (3)

108 Figura 2: Parâmetros clínicos utilizados na avaliação físico-ortopédica nos dias 0, 30, 60 e 90 após a
 109 aplicação de AD-CTM alógenas em cães portadores de DCF.

110 Os proprietários foram convidados a responder a um questionário composto por
 111 11 perguntas no intuito de avaliar a dor dos animais, denominado Índice de dor crônica
 112 de Helsinqui (IDCH) (Fig 3), validado por (Hielm-Björkman *et al.*, 2009).

113

1ª ânimo
(0) muito ativo (1) ativo (2) nem ativo, nem abatido (3) abatido (4) muito abatido
2ª vontade de participar de brincadeiras
(0) muita vontade (1) vontade (2) relutante (3) muito relutante (4) não brinca
3ª frequência em que o cão vocaliza audivelmente
(0) nunca (1) dificilmente (2) às vezes (3) frequentemente (4) muito frequentemente
4ª, 5ª, 6ª, 7ª facilidade em que o cão tem em: andar, trotar, galopar e pular
(0) muita facilidade (1) com facilidade (2) relutante (3) muito relutante (4) não anda, não trota, não galopa ou não pula
8ª facilidade em que o cão deita
(0) com muita facilidade (1) facilmente (2) nem fácil, nem difícil (3) com dificuldade (4) com muita dificuldade
9ª facilidade em que o cão se levanta de uma posição deitada
(0) muito facilmente (1) facilmente (2) nem fácil, nem difícil (3) com dificuldade (4) com muita dificuldade
10ª facilidade do cão em se movimentar após um longo descanso
(0) muito fácil (1) facilmente (2) nem fácil, nem difícil (3) dificilmente (4) muito dificilmente
11ª facilidade do cão em se movimentar após exercício intenso ou pesado
(0) muito fácil (1) facilmente (2) algumas vezes com dificuldade (3) dificilmente (4) muito dificilmente

114 Figura 3: Perguntas referentes ao Índice de dor crônica de Helsinque aplicado aos proprietários nos dias 0,
 115 30, 60 e 90. Adaptado de (Hielm-Björkman *et al.*, 2009).

116

117 Para aplicação das células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (AD-
 118 CTM), realizada no dia zero, após a confirmação da normalidade em todos os exames e
 119 jejum de 8 horas, os cães foram submetidos a procedimento anestésico. Utilizou-se
 120 Acepram 0,2 % (acepromazina, Vetnil, Brasil) na dose de 0,04 mg/Kg/SC, como
 121 medicação pré-anestésica e posteriormente Provive 1% (propofol, União Química, Brasil)
 122 na dose 4,0mg/Kg IV, para indução anestésica. Após a perda do reflexo laringo-traqueal
 123 os cães foram intubados para manutenção anestésica com Isoflurano (isoflurano,
 124 BioChimico, Brasil) em circuito anestésico e com fluxo constante de oxigênio de 2,5
 125 L/min.

126 As AD-CTM alógenas foram obtidas, mediante parceria com a empresa Regenera
 127 (Regenera- Medicina Veterinária Avançada[®], Brasil) a qual cultiva CTM seguindo os
 128 princípios da Sociedade Internacional de Terapia Celular (SITC). Os criotubos contendo
 129 2×10^6 de células, foram mantidas em nitrogênio líquido até o descongelamento no
 130 momento da utilização. O procedimento de descongelamento e aplicação foi realizado de
 131 acordo com as recomendações da empresa. Para isso, um componente da equipe foi
 132 treinado e habilitado por meio de curso específico na empresa Regenera.

133 Para aplicação, após a realização de rigoroso manejo pré-cirúrgico como
 134 tricotomia e antissepsia, realizou-se artrocentese das ACF com uma agulha 16G. As CTM
 135 diluídas em 1 ml de NaCl 0,9 %, foram aplicadas uma única vez, em cada articulação
 136 logo após a coleta de 1 ml de líquido sinovial para avaliação, cujo resultado fará parte de
 137 um outro estudo. Após a conclusão do procedimento e do retorno anestésico, os animais
 138 foram liberados.

139 Os dados obtidos foram transformados em dados ordinais, de acordo com o grau
 140 de intensidade de cada variável observada no estudo. Assim, utilizou-se o teste de
 141 Friedman com comparações múltiplas para verificar a resposta obtida. A margem de erro
 142 utilizada na decisão dos testes estatísticos (nível de confiabilidade) foi 5,0%. A tabulação
 143 dos dados brutos e a obtenção dos cálculos estatísticos foram realizadas no software
 144 Graphpad Prisma, versão 7.0.

145

146 RESULTADOS

147 Ao longo do estudo 3 cães machos foram excluídos, sendo dois em decorrência
 148 de limitações e displicência dos proprietários e um por apresentar outra patologia
 149 concomitante. Assim, foram utilizados 12 animais de ambos os sexos com graus variados
 150 de displasia coxofemoral classificados de acordo com o método FCI (2 classificados com
 151 grau C, 4 como grau D e 6 como grau E). O peso médio dos animais foi de 33,34 Kg, a
 152 idade média foi de 4,9 anos e o escore de condição corporal médio foi 7,2 (Tab. 1).

153 **Tabela 1.** Peso corporal dos animais (em quilogramas), idade (em anos) e escore de condição corporal.

	Sexo		
	Macho	Fêmea	Amostra total
	Média ± DP (Mediana)	Média ± DP (Mediana)	Média ± DP (Mediana)
Peso corporal	36,01 ± 5,38 (37,75)	28,00 ± 11,43 (25,00)	33,34 ± 7,99 (36,25)
Idade	5,0 ± 3,6 (4,5)	4,7 ± 2,2 (5,0)	4,9 ± 3,1 (5,0)
ECC	7,0 ± 0,9 (7,0)	7,5 ± 1,7 (8,0)	7,2 ± 1,2 (7,0)

154 Escore de condição Corporal; DP – Desvio padrão

155 Os parâmetros utilizados na avaliação dos membros posteriores direito e esquerdo
 156 durante a locomoção nos dias 0, 30, 60 e 90 dias são apresentados na Tab 2.

157 Não houveram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos parâmetros claudicação ao
 158 caminhar (tanto para o MPD quanto para o MPE), claudicação ao trote (MPE) e amplitude
 159 de movimento (MPE) na avaliação do dia 30.

160 **Tabela 2.** Parâmetros avaliados em ambos os membros durante a locomoção nos dias 0, 30, 60 e 90 após a
 161 aplicação das células-tronco mesequimais alógenas derivadas do tecido adiposo.

PARÂMETRO AVALIADO	0 DIAS		30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
	MPD	MPE	MPD	MPE	MPD	MPE	MPD	MPE
Claudicação caminhar	3,5	3,542	2,3 ns	2,5 ns	2,1*	2,083*	2,1*	1,875**
Claudicação trote	3,9	3,708	2,4*	2,5 ns	1,85**	1,833**	1,85**	1,958**
Amplitude movimento	3,8	3,75	2,2*	2,583 ns	2**	1,833***	2**	1,833***
Capacidade funcional	3,95	3,958	2,15**	2,208**	1,95**	1,958***	1,95**	1,875***

162 MPD - Membro posterior direito; MPE - Membro posterior esquerdo.

163 ns – não significativo em relação ao momento inicial (dia 0); * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,0001.

164 Em todos os parâmetros avaliados durante a locomoção, houveram diferenças
 165 significativas positivas nos dias 60 e 90. Os resultados referentes a avaliação físico-
 166 ortopédica nos dias 0, 30, 60 e 90 após a aplicação de AD-CTM alógenas estão
 167 disponíveis na Tab 3.

168 **Tabela 3.** Avaliação físico-ortopédica realizada em ambos os membros nos dias 0,30, 60 e 90 dias após a
 169 aplicação das células-tronco mesequimais alógenas derivadas do tecido adiposo

PARÂMETRO AVALIADO	0 DIAS		30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
	MPD	MPE	MPD	MPE	MPD	MPE	MPD	MPE
Dor cranial	3,6	3,417	2,3ns	2,417 ns	2,15*	2,25 ns	1,95*	1,917 *
Dor caudal	3,7	3,833	2,1*	2,208 *	1,75**	2,042 **	2,45ns	1,917***
Dor flexão	3,6	3,292	2,4 ns	2,333 ns	2*	2,208 ns	2*	2,167 ns
Dor externa	3,9	3,958	2,6 ns	2,25**	1,75***	2 ***	1,75***	1,792 **
Dor à abdução	3,9	3,667	2,25*	2,375 *	1,85**	1,917***	2**	2,042***
Atrofia muscular	2,55	2,5	2,55ns	2,5 ns	2,35 ns	2,5 ns	2,55 ns	2,5 ns
Teste de estação bípede	2,8	2,75	2,4 ns	2,417 ns	2,4 ns	2,417 ns	2,4 ns	2,417 ns
Crepitação articular	2,85	2,667	2,65ns	2,667 ns	2,25 ns	2,5 ns	2,25 ns	2,167 ns

170 MPD – Membro posterior direito; MPE – Membro posterior esquerdo.

171 ns – não significativo; * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,0001.

172

173 A avaliação clínica dos animais quanto à presença de dor durante extensão cranial
 174 não demonstrou diferença significativa aos 30 dias em ambos os membros. Houve
 175 diferença no MPD ($p < 0,0002$) aos 60 e 90 dias e no MPE ($p < 0,0004$) aos 90 dias. No
 176 que se refere à presença de dor durante extensão caudal, a análise dos dados revelou
 177 diferença significativa positiva, com redução do grau de dor no MPD ($p < 0,0004$) aos 30
 178 e 60 dias e no MPE ($p < 0,0001$) em todos os momentos avaliados (30, 60 e 90 dias).

179 A análise da presença de dor durante flexão não mostrou alteração significativa
 180 no MPE ($p < 0,05$) nos tempos avaliados. Houve diferença no MPD ($p < 0,0004$) aos 60 e
 181 90 dias de idade. Durante a rotação externa observou-se diferença significativa positiva
 182 para o MPD ($p < 0,0001$) aos 60 e 90 dias e para o MPE ($p < 0,0001$) em todos os
 183 momentos avaliados (30, 60 e 90 dias). Em relação a abdução houve melhoria
 184 significativa em relação à presença de dor em ambos os membros ao longo dos períodos
 185 avaliados. Os parâmetros relativos à atrofia muscular, teste de estação bípede e crepitação
 186 articular não evidenciaram alteração significativa ($p < 0,05$) em todos os momentos
 187 avaliados (30, 60 e 90 dias) em relação ao período inicial (dia 0).

188 Os resultados referentes ao Índice de dor crônica de Helsinque para avaliação do
 189 estado geral do paciente estão dispostos na Tab. 4.

190 **Tabela 4.** Dados obtidos no Índice de dor crônica de Helsinque, em 0, 30, 60 e 90 dias

PARAMETRO AVALIADO	0 DIA	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
1	3,5	2,125*	2,25 ns	2,125*
2	3,417	2,375 ns	2,25 ns	1,958*
3	3,833	2,25 **	1,958*	1,958**
4	3,583	2,292 *	2,208*	1,917**
5	3,458	2,542 ns	1,958*	2,042*
6	3,792	2,5*	2,0**	1,708***
7	3,958	2,5*	1,75***	1,792***
8	2,833	2,458 ns	2,208 ns	2,5 ns
9	3,958	2,167 **	2,0***	1,875***
10	3,958	2,208 **	1,792***	2,042***
11	3,958	2,333 **	1,667***	2,042***

191 (1) Ânimo; (2) Vontade de participar de brincadeiras; (3) Frequência em que o cão vocaliza audivelmente
 192 (4) (5) (6) (7) Facilidade em que o cão tem em: andar, trotar, galopar e pular (4 itens); (8) Facilidade para
 193 deitar; (9) Facilidade em que o cão se levanta de uma posição deitada; (10) Facilidade do cão em se
 194 movimentar após um longo descanso e (11) Facilidade do cão em se movimentar após exercício intenso ou
 195 pesado.

196 ns – não significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$.

197 Aos 30 dias em comparação com período inicial (dia 0) houve melhora no (1)
198 estado de ânimo ($p < 0,0008$), (3) vocalização indicativa de dor ($p < 0,0001$), (4)
199 facilidade de caminhar ($p < 0,0001$), (6) facilidade para galopar ($p < 0,0001$), (7)
200 facilidade para pular ($p < 0,0001$), (9) facilidade para levantar-se de uma posição deitada
201 ($p < 0,0001$), (10) facilidade para mover-se após um longo período de descanso ($p <$
202 $0,0001$) e (11) facilidade para mover-se após um esforço físico ou esforço intenso ($p <$
203 $0,0001$).

204 Para os parâmetros (3), (4), (5), (6), (7), (9), (10) e (11) também houve diferença
205 significativa na avaliação realizada aos 60 dias quando comparado ao início do tratamento
206 (dia 0). O parâmetro (5) vontade durante o trote ($p < 0,0004$) mostrou diferença
207 significativa quando avaliado aos 60 dias, embora na avaliação aos 30 dias não tenha
208 havido diferença ($p < 0,05$). Para os parâmetros (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (9), (10) e
209 (11) houve diferença significativa também na avaliação realizada aos 90 dias, quando
210 comparado à avaliação inicial (dia 0). O parâmetro do item capacidade de deitar (8), não
211 apresentou diferença significativa em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$) em
212 relação ao início do tratamento (dia 0).

213

214 DISCUSSÃO

215 Apesar da existência de várias alternativas de tratamento, não há ainda uma
216 conduta considerada ideal no manejo de cães acometidos com a DCF (Schachner e Lopez,
217 2015). Da mesma forma, a literatura científica destaca uma acentuada disparidade entre
218 os supostos benefícios das CT e sua comprovação prática (Whitworth e Banks, 2014;
219 Filardo *et al.*, 2016; Markoski, 2016;). Em geral, neste estudo, os sinais clínicos
220 comumente associados a animais portadores de DCF apresentaram remissão na avaliação
221 durante a locomoção (Tab 2.) e na avaliação clínico-ortopédica (Tab 3.) após a aplicação
222 das AD-CTM alógenas. De forma similar, a avaliação pelos proprietários através do
223 questionário também mostrou evolução positiva (Tab. 4).

224 Resultados semelhantes foram obtidos por Black *et al.* (2007) em um ensaio
225 clínico randomizado, cego e controlado com placebo onde foi realizada a injeção intra-
226 articular da fração vascular estromal (FVE) derivado do tecido adiposo em cães OA
227 crônica nas ACF. A metodologia utilizada também se baseou na avaliação de parâmetros
228 clínicos (em locomoção e físico-ortopédica) além da aplicação de questionário aos

229 proprietários. Segundo os autores, houve melhoria significativa nos cães tratados com a
230 FVE ao longo do estudo e em relação ao grupo controle nos parâmetros: claudicação ao
231 trote, amplitude de movimento e a dor na manipulação após 30, 60 e 90 dias de aplicação
232 das células-tronco. Entretanto, diferentemente do trabalho citado, neste estudo, houve
233 diferença significativa na claudicação e amplitude de movimento apenas após 60 dias.
234 Outra disparidade, refere-se à capacidade funcional, a qual melhorou consideravelmente,
235 conforme disposto na Tab 2, diferentemente do estudo citado onde não houveram
236 diferenças significativas. Da mesma forma, os resultados do questionário respondido
237 pelos proprietários não alcançaram significância, enquanto o IDCH utilizado neste
238 trabalho, contribuiu significativamente para a avaliação em questão.

239 O efeito das AD-CTM associadas a plasma rico em fatores de crescimento (PRFC)
240 aplicado intra-articular em cães com OA grave nas ACF foi avaliado em plataforma de
241 força por Vilar *et al.* (2014). Apesar da metodologia usada diferir deste trabalho, ao final
242 de 6 meses de avaliação, o estudo demonstrou que a terapia resultou em claudicação
243 reduzida em comparação com o grupo controle, o que corrobora os resultados desde
244 estudo.

245 Em outro trabalho recente, objetivou-se comparar a regeneração cartilaginosa das
246 ACF de coelhos, com e sem injeção de AD-CTM autólogas após indução de OA, por
247 meio de exame histopatológico. Foram realizadas avaliações aos 30, 60 e 90 dias após a
248 aplicação. Os resultados histológicos deste ensaio indicaram melhora discreta na
249 qualidade do tecido de reparo, de acordo com os critérios da escala semi-quantitativa
250 Sociedade Internacional para reparo da cartilagem (Coelho, 2017).

251 Da mesma forma, diferentes trabalhos demonstram a atuação das CT em diversas
252 espécies com OA, como equinos (Seo *et al.*, 2013), caprinos (Murphy *et al.*, 2003), ovinos
253 (Kandel *et al.*, 2006), porco da índia (Sato *et al.*, 2012) e camundongo (Diekman *et al.*,
254 2013). Diferentemente desse trabalho, a maioria dos estudos foram realizados na
255 articulação do joelho. Por outro lado, de forma similar, os resultados positivos foram
256 predominantes.

257 Outros relatos do uso CTM em humanos com alterações na ACF corroboram os
258 resultados obtidos neste estudo. Um ensaio demonstrou os resultados de injeções intra-
259 articulares de CTM derivadas da medula óssea (MO-CTM) autólogas associada a
260 artroscopia do quadril, em pacientes humanos, para o choque femoroacetabular (FAI). Os

261 resultados demonstraram a melhoria na qualidade de vida e o escore funcional em
262 pacientes com FAI e lesões de cartilagem (Mardones *et al.*, 2016). Da mesma forma, o
263 uso de MO-CTM autólogas a associação a perfurações na cabeça femoral (descompressão
264 do núcleo) em pacientes humanos com necrose asséptica da cabeça femoral foi relatada
265 com sucesso (Xu *et al.*, 2017).

266 As observações desse ensaio referentes a melhoria na sintomatologia dos animais
267 podem relacionar-se possivelmente as observações recentes dos efeitos anti-inflamatório,
268 imunomodulador, imunossupressor, angiogênico, quimiotáxico e antiapoptótico das
269 CTM (Da Silva Meirelles *et al.*, 2009; Whitworth e Banks, 2014; Markoski, 2016). Assim,
270 com base nos mecanismos de atuação, as CTM oferecem terapêuticamente perspectivas
271 de tratamento inovadoras para afecções articulares como a DCF, a qual apresenta vários
272 entraves em sua forma de tratamento atual (Markoski, 2016).

273 Com a evolução da terapia celular nos últimos anos, vários laboratórios passaram
274 a explorar as CTM de forma comercial principalmente em animais de companhia e
275 equinos (Markoski, 2016) ao mesmo tempo em que a SITC estabeleceu critérios mínimos
276 para caracterização das CTM (Dominici *et al.*, 2006). Neste estudo, a escolha por
277 utilização das CTM alógenas obtidas por meio de uma empresa comercial baseou-se na
278 facilidade de obtenção e manejo, na possibilidade de conservação permitindo
279 disponibilidade imediata, além do atendimento aos requisitos básicos conforme a SITC.

280 Da mesma forma, condições como facilidade de coleta (Kern *et al.*, 2006), maior
281 número de CTM (Webb *et al.*, 2012) e maior taxa de proliferação (Kern *et al.*, 2006)
282 tornaram as AD-CTM potencialmente atraentes e por isso foram escolhidas para esse
283 estudo. Embora não haja consenso sobre a quantidade adequada de CT, a quantidade
284 usada neste estudo (2×10^6), aplicada em cada articulação avaliada, está de acordo com
285 intervalo observado em literatura (Whitworth e Banks, 2014).

286 Sabe-se, que o peso corporal é um dos fatores de maior influência no
287 desenvolvimento da DCF e consequentemente da OA (Remedios e Fries, 1995). Os dados
288 obtidos referentes ao índice de condição corporal demonstraram que os animais estudados
289 acompanham uma tendência mundial de sobrepeso. Assim, a ocorrência dos sinais
290 clínicos pode ser exacerbada em animais com sobrepeso, o que pode ter contribuído para
291 a ausência de resultado significativo no parâmetro teste de estação bípede.

292 Não houve melhora significativa no parâmetro atrofia muscular, o que pode estar
293 relacionado com a cronicidade das lesões musculares em vista do tempo e grau de atrofia,
294 associadas a idade dos animais. Da mesma forma, não foram observadas diferenças no
295 que se refere a crepitação articular confirmando as afirmações que as AD-CTM não tem
296 a capacidade de restauração da articulação (Whitworth e Banks, 2014).

297 Nesse estudo, apesar das variações, observou-se melhora significativa
298 principalmente avaliação da dor durante extensão caudal, abdução e rotação externa.
299 Esses resultados demonstram o efeito positivo das AD-CTM alógenas em cães portadores
300 de DCF, ao mesmo tempo que reafirmam o disposto em literatura no que se refere a dor,
301 a qual é percebida principalmente durante avaliação desses parâmetros (Ginja *et al.*,
302 2010).

303 Segundo Essner *et al.* (2017), a avaliação da dor em cães com afecções articulares
304 pode ser realizada pelo tutor e oferece as vantagens de uma análise prolongada em seu
305 ambiente típico por alguém que conhece intimamente o cotidiano do animal, sendo capaz
306 de identificar mudanças sutis em seu comportamento. O IDCH (Tab. 4) confirmou os
307 resultados obtidos durante a avaliação clínica e demonstrou ser uma ferramenta prática
308 na avaliação da dor induzida por DCF em animais. Entretanto, foi identificada uma
309 dificuldade na avaliação pelos proprietários no item dificuldade de sentar, o que pode
310 justificar a ausência de significância desse parâmetro ao mesmo tempo permite uma
311 reflexão sobre a importância do mesmo na avaliação. Da mesma forma, alguns itens
312 analisados como o ânimo e a vontade de brincar do cão apresentam maior grau de
313 subjetividade podendo sofrer variações de outros fatores como a idade e disposição do
314 animal, podendo assim, justificar a variação nos resultados nestes itens.

315 Além das informações obtidas com IDCH, foram relatadas diversas situações
316 individuais como por exemplo o retorno a micção em posição característica de macho
317 (com um dos membros levantados) constatada em dois animais, a melhora na disposição
318 em atividades específicas como saltar obstáculo (portão na residência), melhora na
319 entrada e saída de automóveis e, ainda, capacidade de monta sobre a fêmea (sem
320 finalidade reprodutiva).

321 CONCLUSÃO

322 Os resultados obtidos através da avaliação em locomoção, exame físico-
323 ortopédico e aplicação do questionário (Índice de dor crônica de Helsinque- IDCH)

324 permitem inferir que as AD-CTM alógenas contribuíram significativamente para o
325 sucesso no tratamento da DCF, permitindo redução dos sinais clínicos e
326 conseqüentemente propiciando uma melhor qualidade de vida aos cães incluídos no
327 estudo.

328

329 REFERÊNCIAS

330 BARR, A. R. S.; DENNY, H. R.; GIBBS, C. Clinical hip dysplasia in growing dogs: the
331 long-term results of conservative management. *Journal of Small Animal Practice*, v. 28,
332 n. 4, p. 243–252, 1987.

333 BERGH, M. S.; BUDSBERG, S. C. A Systematic Review of the Literature Describing
334 the Efficacy of Surgical Treatments for Canine Hip Dysplasia (1948-2012). *Veterinary
335 Surgery*, v. 43, n. 5, p. 501–506, 2014.

336 BLACK, L. L.; GAYNOR, J.; GARHRING, D. *et al.* Effect of adipose-derived
337 mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic
338 osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter,
339 controlled trial. *Veterinary therapeutics : research in applied veterinary medicine*, v. 8,
340 n. 4, p. 272–84, 2007.

341 COELHO, L. D. P. *Células-Tronco Mesenquimais Autólogas No Articulação*
342 *Coxofemoral Em Coelhos Células-Tronco Mesenquimais Autólogas No Articulação*
343 *Coxofemoral Em Coelhos*.2017. 91f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-
344 UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - JÚLIO DE MESQUITA FILHO.

345 DA SILVA MEIRELLES, L.; FONTES, A. M.; COVAS, D. T.; CAPLAN, A. I.
346 Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine
347 & Growth Factor Reviews*, v. 20, n. 5–6, p. 419–427, 2009.

348 DESANDO, G.; CAVALLO, C.; SARTONI, F. *et al.* Intra-articular delivery of adipose
349 derived stromal cells attenuates osteoarthritis progression in an experimental rabbit
350 model. *Arthritis Research & Therapy*, v. 15, n. 1, p. 22, 2013.

351 DIEKMAN, B. O.; WU, C.L.; LOUER, C. R. *et al.* Intra-articular Delivery of Purified
352 Mesenchymal Stem Cells from C57BL/6 or MRL/MpJ Superhealer Mice Prevents
353 Posttraumatic Arthritis. *Cell Transplantation*, v. 22, n. 8, p. 1395–1408, 2013.

354 DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I. *et al.* Minimal criteria for defining
355 multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy
356 position statement. *Cytotherapy*, v. 8, n. 4, p. 315–7, 2006.

357 ESSNER, A.; ZETTERBERG, L.;HELLSTROM, K. *et al.* Psychometric evaluation of
358 the canine brief pain inventory in a Swedish sample of dogs with pain related to
359 osteoarthritis. *Acta veterinaria Scandinavica*, v. 59, n. 1, p. 44, 2017.

360 FARRELL, M.; CLEMENTS, D.; N., MELLOR, D. *et al.* Retrospective evaluation of
361 the long-term outcome of non-surgical management of 74 dogs with clinical hip
362 dysplasia. *The Veterinary record*, v. 160, n. 15, p. 506–11, 2007.

- 363 FILARDO, G.; PERDISA, F.; ROFFI, A. *et al.* Stem cells in articular cartilage
364 regeneration. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, v. 11, n. 1, p. 42, 2016.
- 365 FRIES, C. L.; REMEDIOS, A. M. The pathogenesis and diagnosis of canine hip
366 dysplasia: a review. *Canadian Veterinary Journal*, v. 36, p. 494-502, 1995.
- 367 GINJA, M. M. D.; SILVESTRE, A. M.; GONZALO-ORDEN, J. M.; FERREIRA, A. J.
368 A. *et al.* Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia:
369 A review. *The Veterinary Journal*, v. 184, n. 3, p. 269–276, 2010.
- 370 HIELM-BJÖRKMAN, A. K.; RITA, H.; TULAMO, R.-M. Psychometric testing of the
371 Helsinki chronic pain index by completion of a questionnaire in Finnish by owners of
372 dogs with chronic signs of pain caused by osteoarthritis. *American Journal of*
373 *Veterinary Research*, v. 70, n. 6, p. 727–734, 2009.
- 374 KANDEL, R. A.; GRYNPAS, M.; PILLIAR, R. *et al.* Repair of osteochondral defects
375 with biphasic cartilage-calcium polyphosphate constructs in a Sheep model.
376 *Biomaterials*, v. 27, n. 22, p. 4120–4131, 2006.
- 377 KERN, S.; EICHLER, H.; STOEVE, J. *et al.* Comparative Analysis of Mesenchymal
378 Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells*,
379 v. 24, n. 5, p. 1294–1301, 2006.
380
- 381 LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for
382 dogs. *Canine Practice*, v.22, p.10-15, 1997.
- 383 MARDONES, R.; VIA, A. G.; JOFRE, C. *et al.* Cell therapy for cartilage defects of the
384 hip. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, v. 6, n. 3, p. 361–366, 2016.
- 385 MARKOSKI, M. M. Advances in the Use of Stem Cells in Veterinary Medicine: From
386 Basic Research to Clinical Practice. *Scientifica*, v. 2016, p. 45, 2016.
- 387 MURPHY, J. M.; FINK, D. J.; HUNZIKER, E. B.; BARRY, F. P. Stem cell therapy in
388 a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, v. 48, n. 12, p. 3464–3474,
389 2003.
- 390 POLLMEIER, M.; TOULEMONDE, C.; FLEISHMAN, C.; HANSON, P. D. Clinical
391 evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis. *The*
392 *Veterinary record*, v. 159, n. 17, p. 547–51, 21, 2006.
- 393 REMEDIOS, A. M.; FRIES, C. L. Treatment of canine hip dysplasia: a review.
394 *Canadian Veterinary Journal*, v. 36, n. 8, p. 503–9, 1995.
- 395 SATO, M.; UCHIDA, K.; NAKAJIMA, H.; MIYAZAKI, T. *et al.* Direct
396 transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea
397 pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, v. 14, n. 1, p. R31,
398 2012.
- 399 SCHACHNER, E.; LOPEZ, M. Diagnosis, prevention, and management of canine hip
400 dysplasia: a review. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, v. 6, p. 181, 2015.
- 401 SEO, J. TANABE, T.; TSUZUKI, N.; HANEDA, S. *et al.* Effects of bilayer gelatin/ β -

- 402 tricalcium phosphate sponges loaded with mesenchymal stem cells, chondrocytes, bone
403 morphogenetic protein-2, and platelet rich plasma on osteochondral defects of the talus
404 in horses. *Research in Veterinary Science*, v. 95, n. 3, p. 1210–1216, 2013.
- 405 SOUZA, A. F.; TUDURY, E. Displasia coxofemoral: diagnóstico clínico e radiográfico
406 - revisão. *Clinica Veterinária*, v. 47, p. 54–66, 2003.
- 407 VILAR, J. M.; BATISTA, M.; MORALES, M. *et al.* Assessment of the effect of
408 intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in
409 osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BioMed Research
410 International*, v. 10, p. 143, 2014.
- 411 WEBB, T. L.; QUIMBY, J. M.; DOW, S. W. In vitro comparison of feline bone
412 marrow-derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Feline
413 Medicine and Surgery*, v. 14, n. 2, p. 165–168, 2012.
- 414 WHITWORTH, D. J.; BANKS, T. A. Stem cell therapies for treating osteoarthritis:
415 Prescient or premature? *The Veterinary Journal*, v. 202, n. 3, p. 416–424, 2014.
- 416 XU, S.; ZHANG, L.; JIM, F. *et al.* Autologous Stem Cells Combined Core
417 Decompression for Treatment of Avascular Necrosis of the Femoral Head: A
418 Systematic Meta-Analysis. *BioMed Research International*, v. 2017, p. 1–11, 2017.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos através da avaliação em locomoção, exame físico-ortopédico e aplicação do questionário (Índice de dor crônica de Helsinque- IDCH) permitem inferir que as AD-CTM alógenas contribuíram significativamente para o sucesso no tratamento da DCF, permitindo redução dos sinais clínicos e conseqüentemente propiciando uma melhor qualidade de vida aos cães incluídos no estudo.

5. REFERÊNCIAS

- ADAMS, W. M. (2000). Radiographic diagnosis of hip dysplasia in the young dog. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 30(2): 267.
- AFIZAH, H.; HUI, J. H. P. (2016). Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 7(3): 177–182.
- ALLEN, M. J. (2012). Advances in total joint replacement in small animals. *Journal of Small Animal Practice*, 53(9): 495–506.
- ANDERSON, A. (2011). Treatment of hip dysplasia. *Journal of Small Animal Practice*, 52(4): 182–189.
- BARR, A. R. S.; DENNY, H. R.; GIBBS, C. (1987). Clinical hip dysplasia in growing dogs: the long-term results of conservative management. *Journal of Small Animal Practice*, 28(4): 243–252.
- BELSHAW, Z.; ASHER, L.; DEAN, R. S. (2016). Systematic Review of Outcome Measures Reported in Clinical Canine Osteoarthritis Research. *Veterinary Surgery*, 45(4): 480–487.
- BERGH, M. S.; BUDSBERG, S. C. (2014). A Systematic Review of the Literature Describing the Efficacy of Surgical Treatments for Canine Hip Dysplasia (1948-2012). *Veterinary Surgery*, 43(5): 501–506.
- BIEBACK, K.; KERN, S.; KOCAÖMER, A.; FERLIK, K.; BUGERT, P. (2008). Comparing mesenchymal stromal cells from different human tissues: bone marrow, adipose tissue and umbilical cord blood. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 18(1): 71.
- BLACK, L. L.; GAYNOR, J.; ADAMS, C.; DHUPA, S.; SAMS, A. E.; TAYLOR, R.; GINGERICH, D.A. HARMAN, R. (2008). Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Veterinary Therapeutics : Research in Applied Veterinary Medicine*, 9(3): 192–200.
- BLACK, L. L.; GAYNOR, J.; GAHRING, D.; ADAMS, C.; ARON, D.; HARMAN, S.; GINGERICH, D.A.; HARMAN, R. (2007). Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Veterinary Therapeutics : Research in Applied Veterinary Medicine*, 8(4): 272-284.
- BLISS, S.; TODHUNTER, R. J.; QUAAS, R.; CASELLA, G.; WU, R.; LUST, G.; WILLIAMS, A. J.; HAMILTON, S.; DYKES, N. L.; YEAGER, A.; GILBERT, R.O.; BURTON-WURSTER, N. I.; ACLAND, G. M. (2002). Quantitative genetics of traits associated with hip dysplasia in a canine pedigree constructed by mating dysplastic Labrador Retrievers with unaffected Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research*, 63(7): 1029–1035.
- BOROSTYANKOI, F., ROOKS, R. L., KOBLUK, C. N., REED, A. L., & LITLEDIKE, E. T. (2003). Results of single-session bilateral triple pelvic osteotomy with an eight-hole iliac bone plate in dogs: 95 cases (1996-1999). *Journal of the American*

Veterinary Medical Association, 222(1): 54–59.

BOURIN, P.; BUNNELL, B. A.; CASTEILLA, L.; DOMINICI, M.; KATZ, A. J.; MARCH, K. L.; GIMBLE, J. M. (2013). Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*, 15(6): 641–648.

BRADEN, T. D.; PRIEUR, W. D. (1992). Three-plane intertrochanteric osteotomy for treatment of early stage hip dysplasia. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 22(3): 623–643.

BRADEN, T. D.; PRIEUR, W. D.; & KANEENE, J. B. (1990). Clinical evaluation of intertrochanteric osteotomy for treatment of dogs with early-stage hip dysplasia: 37 cases (1980-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(2): 337–341.

BRANCO ROCHA, L.; TUDURY, E. A.; ROEHSIG, C.; BARAÚNA, D.; CHIORATTO, R.; ARAÚJO, F. P.; KEMPER, B. (2013). Denervação articular coxofemoral em cães com doença articular degenerativa secundária à displasia. *Ci. Anim. Bras*, 14(1): 120–134.

BRASS, W. (1989). Hip dysplasia in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 30(3): 166–170.

BROECKX, B. J. G.; VERHOEVEN, G.; COOPMAN, F.; VAN HAERINGEN, W.; BOSMANS, T.; GIELEN, I.; DEFORCE, D. (2014). The effects of positioning, reason for screening and the referring veterinarian on prevalence estimates of canine hip dysplasia. *The Veterinary Journal*, 201(3): 378–384.

BUTLER, R.; GAMBINO, J. (2017). Canine Hip Dysplasia: Diagnostic Imaging. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 777–793.

CARDINET, G. H., GUFFY, M. M.; WALLACE, L. J. (1974). Canine hip dysplasia: effects of pectineal tenotomy on the coxofemoral joints of German shepherd dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 164(6): 591–598.

CHAMCHAN, U.; WAIKAKUL, S.; PUKANCHANA-MO-RAKOTE, C. (1989). Clinical efficacy of glycosaminoglycan polysulfate for the treatment of osteoarthritis of the knee joint: a double blind controlled study. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 72(3): 123–128.

CHANG, T.; TANG, K.; TAO, X.; CAO, H.; LI, H.; CHEN, Q.; XU, J. (2010). Treatment of early avascular necrosis of femoral head by core decompression combined with autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 24(6): 739–743.

CHOW, L.; JOHNSON, V.; REGAN, D.; WHEAT, W.; WEBB, S.; KOCH, P.; DOW, S. (2017). Safety and immune regulatory properties of canine induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research*, 25: 221–232.

COELHO, L. D. P. (2017). Células-tronco mesenquimais autólogas no articulação coxofemoral em coelhos células-tronco mesenquimais autólogas no articulação

coxofemoral em coelhos. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - JÚLIO DE MESQUITA FILHO.

CONZEMIUS, M. G.; VANDERVOORT, J. (2005). Total Joint Replacement in the Dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 35(5): 1213–1231.

COOK, J. L.; TOMLINSON, J. L.; CONSTANTINESCU, G. M. (1996). Pathophysiology, diagnosis, and treatment of canine hip dysplasia. *The Compendium*, 18(8): 1–10.

DA SILVA MEIRELLES, L.; CHAGASTELLES, P. C.; NARDI, N. B. (2006). Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of Cell Science*, 119(11): 2204–2213.

DA SILVA MEIRELLES, L.; FONTES, A. M.; COVAS, D. T.; CAPLAN, A. I. (2009). Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 20(5–6): 419–427.

DAHLBERG, J.; FITCH, G.; EVANS, R. B.; MCCLURE, S. R.; CONZEMIUS, M. (2005). The evaluation of extracorporeal shockwave therapy in naturally occurring osteoarthritis of the stifle joint in dogs. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology: V.C.O.T.*, 18(3): 147–52.

DEISENROTH, A.; NOLTE, I.; WEFSTAEDT, P. (2013). Use of gold implants as a treatment of pain related to canine hip dysplasia--a review. Part 2: Clinical trials and case reports. *Tierärztliche Praxis*, 41(4): 244–254.

DEJARDIN, L. M.; PERRY, R. L.; ARNOCKY, S. P. (1998). The Effect of Triple Pelvic Osteotomy on the Articular Contact Area of the Hip Joint in Dysplastic Dogs: An in Vitro Experimental Study. *Veterinary Surgery*, 27(3): 194–202.

DEJARDIN, L. M.; PERRY, R. L.; ARNOCKY, S. P.; TORZILLI, P. A. (1996). The Effect of Triple Pelvic Osteotomy on Hip Force in Dysplastic Dogs: A Theoretical Analysis. *Veterinary Surgery*, 25(2): 114–120.

DENNIS, R. (2012). Interpretation and use of BVA/KC hip scores in dogs. *In Practice*, 34(4): 178–194.

DESANDO, G.; CAVALLO, C.; SARTONI, F.; MARTINI, L.; PARRILLI, A.; VERONESI, F.; GRIGOLO, B. (2013). Intra-articular delivery of adipose derived stromal cells attenuates osteoarthritis progression in an experimental rabbit model. *Arthritis Research & Therapy*, 15(1): 1-15.

DIEKMAN, B. O.; GUILAK, F. (2013). Stem cell-based therapies for osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 25(1): 119–126.

DIEKMAN, B. O.; WU, C.L.; LOUER, C. R.; FURMAN, B. D.; HUEBNER, J. L.; KRAUS, V. B.; Guilak, F. (2013). Intra-articular Delivery of Purified Mesenchymal Stem Cells from C57BL/6 or MRL/MpJ Superhealer Mice Prevents Posttraumatic Arthritis. *Cell Transplantation*, 22(8): 1395–1408.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; HORWITZ, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *The International Society for Cellular Therapy position*

statement. *Cytotherapy*, 8(4): 315–7.

DUELAND, R. T.; ADAMS, W. M.; PATRICELLI, A. J.; LINN, K. A.; CRUMP, P. M. (2010). Canine hip dysplasia treated by juvenile pubic symphysiodesis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 23(5): 306–317.

DYCUS, D. L.; LEVINE, D.; MARCELLIN-LITTLE, D. J. (2017). Physical Rehabilitation for the Management of Canine Hip Dysplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 823–850.

FARRELL, M.; CLEMENTS, D. N.; MELLOR, D.; GEMMILL, T.; CLARKE, S. P.; ARNOTT, J. L.; CARMICHAEL, S. (2007). Retrospective evaluation of the long-term outcome of non-surgical management of 74 dogs with clinical hip dysplasia. *The Veterinary Record*, 160(15): 506–11.

FATTAHIAN, H.; MOHYEDDIN, H.; HOSEINZADEH, A.; AKBAREIN, H.; MORIDPOUR, R. (2012). Excision arthroplasty of the hip joint in dogs: The role of age, weight, degenerative joint disease on the outcome, 18(3): 431–436.

FILARDO, G.; PERDISA, F.; ROFFI, A.; MARCACCI, M.; & KON, E. (2016). Stem cells in articular cartilage regeneration. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 11(1): 42.

FITZPATRICK, N.; LAW, A. Y.; BIELECKI, M.; GIRLING, S. (2014). Cementless Total Hip Replacement in 20 Juveniles Using BFX™ Arthroplasty. *Veterinary Surgery*, 43(6): 715-725 .

FLÜCKIGER, M. (2007). Scoring radiographs for canine Hip Dysplasia - The big three organisations in the world. *European Journal of Companion Animal Practice*, Vol.17(2): 135–140.

FRANÇA, J. D. F.; CALLADO DE OLIVEIRA, D. M. M.; RIBAS, C. R.; DO PRADO, A. M. B.; DORNBUSCH, P. T. C.; DORNBUSCH, P. T. (2015). Denervação acetabular no tratamento da displasia coxofemoral canina: estudo comparativo entre duas abordagens cirúrgicas. *Archives of Veterinary Science*, 20(1): .

FRIES, C. L., & REMEDIOS, A. M. (1995, August). The pathogenesis and diagnosis of canine hip dysplasia: a review. *Canadian Veterinary Journal*, 36 (8): 494-502.

FUJIKI, M.; KURIMA, Y.; YAMANOKUCHI, K.; MISUMI, K.; SAKAMOTO, H. (2007). Computed tomographic evaluation of growth-related changes in the hip joints of young dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68(7): 730–734.

FUJIKI, M., MISUMI, K., & SAKAMOTO, H. (2004). Laxity of Canine Hip Joint in Two Positions with Computed Tomography. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(8): 1003–1006.

FUJIKI, M., SHINEHA, J., YAMANOKUCHI, K., MISUMI, K., & SAKAMOTO, H. (2007). Effects of treatment with polysulfated glycosaminoglycan on serum cartilage oligomeric matrix protein and C-reactive protein concentrations, serum matrix metalloproteinase-2 and -9 activities, and lameness in dogs with osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research*, 68(8): 827–833.

GASPAR, A. R.; HAYES, G.; GINJA, C., GINJA, M. M.; TODHUNTER, R. J. (2016).

The Norberg angle is not an accurate predictor of canine hip conformation based on the distraction index and the dorsolateral subluxation score. *Preventive Veterinary Medicine*, 135: 47–52.

GEMMILL, T. J.; PINK, J.; RENWICK, A.; OXLEY, B.; DOWNES, C., ROCH, S.; MCKEE, W. M. (2011). Hybrid Cemented/Cementless Total Hip Replacement in Dogs: Seventy-Eight Consecutive Joint Replacements. *Veterinary Surgery*, 40(5): 621–630.

GINJA, M. M. D.; FERREIRA, A. J.; JESUS, S. S.; MELO-PINTO, P.; BULAS-CRUZ, J.; ORDEN, M. A.; GONZALO-ORDEN, J. M. (2009). Comparison of clinical, radiographic, computed tomographic, and magnetic resonance imaging methods for early prediction of canine hip laxity and dysplasia. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 50(2), 135–143.

GINJA, M. M. D.; PENA, M. P. L.; FERREIRA, A. J. A. (2005). Diagnóstico, controlo e prevenção da displasia da anca no cão. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100 (5): 141–161.

GINJA, M. M. D.; SILVESTRE, A. M.; GONZALO-ORDEN, J. M.; FERREIRA, A. J. A. (2010). Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia: A review. *The Veterinary Journal*, 184(3): 269–276.

GOPAL, K.; AMIRHAMED, H. A.; & KAMARUL, T. (2014). Advances of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of cartilage defects: A systematic review. *Experimental Biology and Medicine*, 239(6): 663–669.

GUO, J., NGUYEN, A.; BANYARD, D. A.; FADAVI, D.; TORANTO, J. D.; WIRTH, G. A.; WIDGEROW, A. D. (2016). Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 2: Mechanisms of regenerative action. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 69(2): 180–188.

HARPER, T. A. (2017). Femoral Head and Neck Excision. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 885–897.

HEDHAMMAR, A. A.; INDREBO, A. (2011). Rules, regulations, strategies and activities within the Fédération Cynologique Internationale (FCI) to promote canine genetic health. *The Veterinary Journal*, 189(2): 141–146.

HENRIGSON, B.; NORBERG, I.; OLSSONS, S.E. (1966). On the Etiology and Pathogenesis of Hip Dysplasia: a Comparative Review. *Journal of Small Animal Practice*, 7(11): 673–688.

HORWITZ, E. M.; LE BLANC, K.; DOMINICI, M.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F. C. (2005). Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 7(5): 393–395.

HSU, S.L.; CHENG, J.H.; WANG, C.; KO, J.Y.; HSU, C.H. (2017). Extracorporeal Shockwave Therapy Enhances Expression of Pdia-3 Which Is a Key Factor of the $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D 3 Rapid Membrane Signaling Pathway in Treatment of Early Osteoarthritis of the Knee. *International Journal of Medical Sciences*, 14(12): 1220–1230.

HUMMEL, D. (2017). Zurich Cementless Total Hip Replacement. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 917–934.

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

JAEGER, G. T.; LARSEN, S.; SOLI, N.; MOE, L. (2007). Two years follow-up study of the pain-relieving effect of gold bead implantation in dogs with hip-joint arthritis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(1): 1-7.

JANUTTA, V.; HAMANN, H.; DISTL, O. (2008). Genetic and phenotypic trends in canine hip dysplasia in the German population of German shepherd dogs. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 121(4): 102–109.

JO, C. H.; LEE, Y. G.; SHIN, W. H.; KIM, H.; CHAI, J. W.; JEONG, E. C.; YOON, K. S. (2014). Intra-Articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Proof-of-Concept Clinical Trial. *STEM CELLS*, 32(5): 1254–1266.

JOHNSON, A.; SMITH, C.; PIJANOWSKI, G.; HUNGERFORD, L. (1998). Triple pelvic osteotomy: effect on limb function and progression of degenerative joint disease. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 34(3): 260–264.

KANDEL, R. A.; GRYNPAS, M.; PILLIAR, R.; LEE, J.; WANG, J.; WALDMAN, S.; HURTIG, M. (2006). Repair of osteochondral defects with biphasic cartilage-calcium polyphosphate constructs in a Sheep model. *Biomaterials*, 27(22): 4120–4131.

KAPATKIN, A. S.; FORDYCE, H. H.; MAYHEW, P. D.; SMITH, G. K. (2002). The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 24(7): 526–538.

KARBE, G. T.; BIERY, D. N.; GREGOR, T. P.; GIGER, U.; SMITH, G. K. (2012). Radiographic Hip Joint Phenotype of the Pembroke Welsh Corgi. *Veterinary Surgery*, 41(1): 34–41.

KEALY, R. D.; LAWLER, D. F.; BALLAM, J. M.; LUST, G.; BIERY, D. N.; SMITH, G. K.; MANTZ, S. L. (2000). Evaluation of the effect of limited food consumption on radiographic evidence of osteoarthritis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(11): 1678–1680.

KEALY, R. D.; LAWLER, D. F.; BALLAM, J. M.; LUST, G.; SMITH, G. K.; BIERY, D. N., & OLSSON, S. E. (1997). Five-year longitudinal study on limited food consumption and development of osteoarthritis in coxofemoral joints of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(2): 222–5.

KEALY, R. D.; LAWLER, D. F.; MONTI, K. L.; BIERY, D.; HELMS, R. W.; LUST, G.; SMITH, G. K. (1993). Effects of dietary electrolyte balance on subluxation of the femoral head in growing dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 54(4): 555–62.

KEALY, R. D.; OLSSON, S. E.; MONTI, K. L.; LAWLER, D. F.; BIERY, D. N.; HELMS, R. W.; SMITH, G. K. (1992). Effects of limited food consumption on the incidence of hip dysplasia in growing dogs. *Journal of the American Veterinary*

Medical Association, 201(6): 857–63.

KELLER, G. G.; DZIUK, E.; BELL, J. S. (2011). How the Orthopedic Foundation for Animals (OFA) is tackling inherited disorders in the USA: Using hip and elbow dysplasia as examples. *The Veterinary Journal*, 189(2): 197–202.

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

KIM, Y. S.; KWON, O. R.; CHOI, Y. J.; SUH, D. S.; HEO, D. B.; KOH, Y. G. (2015). Comparative Matched-Pair Analysis of the Injection Versus Implantation of Mesenchymal Stem Cells for Knee Osteoarthritis. *The American Journal of Sports Medicine*, 43(11): 2738–2746.

KING, M. D. (2017). Etiopathogenesis of Canine Hip Dysplasia, Prevalence, and Genetics. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 47(4): 753–767.

KIRKBY, K. A.; LEWIS, D. D. (2012). Canine Hip Dysplasia: Reviewing the Evidence for Nonsurgical Management. *Veterinary Surgery*, 41(1): 2-9.

KISHIMOTO, M.; YAMADA, K.; PAE, S.-H.; MUROYA, N.; WATARAI, H.; ANZAI, H.; WISNER, E. R. (2009). Quantitative evaluation of hip joint laxity in 22 Border Collies using computed tomography. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 71(2): 247–50.

KOH, Y.G.; CHOI, Y.J. (2012). Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *The Knee*, 19(6): 902–907.

KONG, L.; ZHENG, L.Z.; QIN, L.; HO, K. K. W. (2017). Role of mesenchymal stem cells in osteoarthritis treatment. *Journal of Orthopaedic Translation*, 9: 89–103.

KRONTVEIT, R. I.; NODTVEDT, A.; SAEVIK, B. K.; ROPSTAD, E.; TRANGERUD, C. (2012). Housing- and exercise-related risk factors associated with the development of hip dysplasia as determined by radiographic evaluation in a prospective cohort of Newfoundlands, Labrador Retrievers, Leonbergers, and Irish Wolfhounds in Norway. *American Journal of Veterinary Research*, 73(6): 838–846.

KRONTVEIT, R. I.; TRANGERUD, C.; SAEVIK, B. K.; SKOGMO, H. K.; NODTVEDT, A. (2012). Risk factors for hip-related clinical signs in a prospective cohort study of four large dog breeds in Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 103(2–3): 219–227.

KUMAR, D.; ANAND, T.; KUES, W. A. (2017). Clinical potential of human-induced pluripotent stem cells. *Cell Biology and Toxicology*, 33(2): 99–112.

LIPPINCOTT, C. L. (1992). Femoral head and neck excision in the management of canine hip dysplasia. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 22(3): 721–37.

LUST, G. (1997). An overview of the pathogenesis of canine hip dysplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(10): 1443–5.

- LUST, G.; WILLIAMS, A. J.; BURTON-WURSTER, N.; BECK, K. A.; RUBIN, G. (1992). Effects of intramuscular administration of glycosaminoglycan polysulfates on signs of incipient hip dysplasia in growing pups. *American Journal of Veterinary Research*, 53(10): 1836–43.
- MAKI, K.; JANSS, L. L. G.; GROEN, A. F.; LIINAMO, A.-E.; OJALA, M. (2004). An indication of major genes affecting hip and elbow dysplasia in four Finnish dog populations. *Heredity*, 92(5): 402–408.
- MANLEY, P. A.; ADAMS, W. M.; DANIELSON, K. C.; DUELAND, R. T.; LINN, K. A. (2007). Long-term outcome of juvenile pubic symphysiodesis and triple pelvic osteotomy in dogs with hip dysplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2): 206–210.
- MARDONES, R.; JOFRÉ, C. M.; TOBAR, L.; MINGUELL, J. J. (2017). Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of hip osteoarthritis. *Journal of Hip Preservation Surgery*, 4(2): 159–163.
- MARDONES, R.; LARRAIN, C. (2016). Cartilage restoration technique of the hip. *Journal of Hip Preservation Surgery*, 3(1): 30–36.
- MARDONES, R.; VIA, A. G.; JOFRE, C.; MINGUELL, J.; RODRIGUEZ, C.; TOMIC, A.; SALINEROS, M. (2016). Cell therapy for cartilage defects of the hip. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, 6(3): 361–366.
- MARKOSKI, M. M; (2016). *Advances in the Use of Stem Cells in Veterinary Medicine: From Basic Research to Clinical Practice*. Scientifica, 2016, 4516920.
- MARX, C.; SILVEIRA, M. D.; SELBACH, I.; DA SILVA, A. S.; BRAGA, L. M. G. DE M.; CAMASSOLA, M.; NARDI, N. B. (2014). Acupoint injection of autologous stromal vascular fraction and allogeneic adipose-derived stem cells to treat hip dysplasia in dogs. *Stem Cells International*, 2014, 391274.
- MAYHEW, P. D.; MCKELVIE, P. J.; BIERY, D. N.; SHOFER, F. S.; SMITH, G. K. (2002). Evaluation of a radiographic caudolateral curvilinear osteophyte on the femoral neck and its relationship to degenerative joint disease and distraction index in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(4): 472–476.
- MCLAUGHLIN, R. M.; MILLER, C. W.; TAVES, C. L.; HEARN, T. C.; PALMER, N. C.; ANDERSON, G. I. (1991). Force Plate Analysis of Triple Pelvic Osteotomy for the Treatment of Canine Hip Dysplasia. *Veterinary Surgery*, 20(5): 291–297.
- MCNAIR, P. J.; SIMMONDS, M. A.; BOOCOCK, M. G.; LARMER, P. J. (2009). Exercise therapy for the management of osteoarthritis of the hip joint: a systematic review. *Arthritis Research & Therapy*, 11(3): 98.
- MONTGOMERY, R. D.; MILTON, J. L.; HORNE, R. D.; COBLE, R. H.; WILLIAMS, J. C. (1987). A retrospective comparison of three techniques for femoral head and neck excision in dogs. *Veterinary Surgery : VS*, 16(6): 423–6.
- MORGAN, J. P. (1987). CANINE HIP DYSPLASIA: Significance of Early Bony Spurring. *Veterinary Radiology*, 28(1): 2–5.
- MUELLER, M.; BOCKSTAHLER, B.; SKALICKY, M.; MLACNIK, E.; LORINSON, D.

(2007). Effects of radial shockwave therapy on the limb function of dogs with hip osteoarthritis. *The Veterinary Record*, 160(22): 762–5.

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

NGUYEN, A.; GUO, J.; BANYARD, D. A.; FADAVI, D.; TORANTO, J. D.; WIRTH, G. A.; WIDGEROW, A. D. (2016). Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 69(2): 170–179.

NIEMEYER, P.; FECHNER, K.; MILZ, S.; RICHTER, W.; SUEDEKAMP, N. P.; MEHLHORN, A. T.; KASTEN, P. (2010). Comparison of mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue for bone regeneration in a critical size defect of the sheep tibia and the influence of platelet-rich plasma. *Biomaterials*, 31(13): 3572–3579.

O'BRIEN, R. T.; TASS DUELAND, R.; CHESS ADAMS, W.; MEINEN, J. (1997). Dynamic Ultrasonographic Measurement of Passive Coxofemoral Joint Laxity in Puppies, 33(3): 275–281.

OBERBAUER, A. M.; KELLER, G. G.; FAMULA, T. R. (2017). Long-term genetic selection reduced prevalence of hip and elbow dysplasia in 60 dog breeds. *PLOS ONE*, 12(2).

OFA. Disponível em: <<https://www.ofa.org/diseases/hip-dysplasia>>. Acesso em: 26 dez. 2017.

OLMSTEAD, M. L. (1987). Total hip replacement. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 17(4): 943–55.

PAPAKOSTIDIS, C.; TOSOUNIDIS, T. H.; JONES, E.; GIANNOUDIS, P. V. (2016). The role of “cell therapy” in osteonecrosis of the femoral head. *Acta Orthopaedica*, 87(1): 72–78.

PATRICELLI, A. J.; DUELAND, R. T.; ADAMS, W. M.; FIALKOWSKI, J. P.; LINN, K. A.; NORDHEIM, E. V. (2002). Juvenile pubic symphysiodesis in dysplastic puppies at 15 and 20 weeks of age. *Veterinary Surgery: VS*, 31(5): 435–44.

PEETERS, C. M. M.; LEIJS, M. J. C.; REIJMAN, M.; VAN OSCH, G. J. V. M.; BOS, P. K. (2013). Safety of intra-articular cell-therapy with culture-expanded stem cells in humans: a systematic literature review. *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(10): 1465–1473.

PHAVAPHUTANON, J.; MATEESCU, R. G.; TSAI, K. L.; SCHWEITZER, P. A.; COREY, E. E.; VERNIER-SINGER, M. A.; TODHUNTER, R. J. (2009). Evaluation of quantitative trait loci for hip dysplasia in Labrador Retrievers. *American Journal of Veterinary Research*, 70(9): 1094–1101.

PITTENGER, M. F.; MACKAY, A. M.; BECK, S. C.; JAISWAL, R. K.; DOUGLAS, R.; MOSCA, J. D.; MARSHAK, D. R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5411): 143–7.

- POWERS, M. Y.; BIERY, D. N.; LAWLER, D. F.; EVANS, R. H.; SHOFER, F. S.; MAYHEW, P.; SMITH, G. K. (2004). Use of the caudolateral curvilinear osteophyte as an early marker for future development of osteoarthritis associated with hip dysplasia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(2): 233–237.
- POWERS, M. Y.; KARBE, G. T.; GREGOR, T. P.; MCKELVIE, P.; CULP, W. T. N.; FORDYCE, H. H.; SMITH, G. K. (2010). Evaluation of the relationship between Orthopedic Foundation for Animals' hip joint scores and PennHIP distraction index values in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237(5): 532–541.
- PRIEUR, W. D. (1987). Intertrochanteric osteotomy in the dog: theoretical consideration and operative technique. *Journal of Small Animal Practice*, 28(1): 3–20.
- REMEDIOS, A. M.; FRIES, C. L. (1995). Treatment of canine hip dysplasia: a review. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 36(8): 503–9.
- RIALLAND, P.; BICHOT, S.; LUSSIER, B.; MOREAU, M.; BEAUDRY, F.; DEL CASTILLO, J. R. E.; TRONCY, E. (2013). Effect of a diet enriched with green-lipped mussel on pain behavior and functioning in dogs with clinical osteoarthritis. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 77(1): 66–74.
- Richardson, D. C. (1992). The Role of Nutrition in Canine Hip Dysplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 22(3): 529–540.
- RISLER, A.; KLAUER, J. M.; KEULER, N. S.; ADAMS, W. M. (2009). Puppy Line, Metaphyseal Sclerosis, and Caudolateral Curvilinear and Circumferential Femoral Head Osteophytes in Early Detection of Canine Hip Dysplasia. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 50(2): 157–166.
- ROCHA, B. D.; TÔRRES, R. C. S. (2007). Ultrasonic and radiographic study of laxity in hip joints of young dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia*, 59(1): 90–96.
- RUETZE, M.; RICHTER, W. (2014). Adipose-derived stromal cells for osteoarticular repair: trophic function versus stem cell activity. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 16: e9.
- RUNGE, J. J.; KELLY, S. P.; GREGOR, T. P.; KOTWAL, S.; SMITH, G. K. (2010). Distraction index as a risk factor for osteoarthritis associated with hip dysplasia in four large dog breeds*. *Journal of Small Animal Practice*, 51(5): 264–269.
- SALGADO, A. J. B. O. G.; REIS, R. L. G.; SOUSA, N. J. C.; GIMBLE, J. M. (2010). Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 5(2): 103–10.
- SATO, M.; UCHIDA, K.; NAKAJIMA, H.; MIYAZAKI, T.; GUERRERO, A.; WATANABE, S.; BABA, H. (2012). Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 14(1): R31.

- SCHACHNER, E.; LOPEZ, M. (2015). Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 6: 181.
- SCHILLER, T. D. (2017). BioMedtrix Total Hip Replacement Systems: An Overview. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 899–916.
- SEO, J.; TANABE, T.; TSUZUKI, N.; HANEDA, S.; YAMADA, K.; FURUOKA, H.; SASAKI, N. (2013). Effects of bilayer gelatin/ β -tricalcium phosphate sponges loaded with mesenchymal stem cells, chondrocytes, bone morphogenetic protein-2, and platelet rich plasma on osteochondral defects of the talus in horses. *Research in Veterinary Science*, 95(3): 1210–1216.
- SHAO, X.; GOH, J. C. H.; HUTMACHER, D. W.; LEE, E. H.; & ZIGANG, G. (2006). Repair of Large Articular Osteochondral Defects Using Hybrid Scaffolds and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Model. *Tissue Engineering*, 12(6): 1539–1551.
- SILVA, G. F.; CARVALHO, A. V.; PENTEADO, B. M.; LINS, B. T.; SELMI, A. L. (2012). Desnervação capsular percutânea ou aberta no tratamento da dor na displasia coxofemoral canina. *Ciência Rural*, 42(4): 685–690.
- SLOCUM, B.; SLOCUM, T. D. (1992). Pelvic Osteotomy for Axial Rotation of the Acetabular Segment in Dogs with Hip Dysplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 22(3): 645–682.
- SMITH, G. K. (1997). Advances in diagnosing canine hip dysplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(10): 1451–1457.
- SMITH, G. K.; BIERY, D. N.; GREGOR, T. P. (1990). New concepts of coxofemoral joint stability and the development of a clinical stress-radiographic method for quantitating hip joint laxity in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(1): 59–70.
- SMITH, G. K.; PASTER, E. R.; POWERS, M. Y.; LAWLER, D. F.; BIERY, D. N., SHOFER, F. S.; KEALY, R. D. (2006). Lifelong diet restriction and radiographic evidence of osteoarthritis of the hip joint in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(5): 690–693.
- SOLTER, D. (2006). From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nature Reviews Genetics*, 7(4): 319–327.
- SOO, M., & WORTH, A. (2015). Canine hip dysplasia: phenotypic scoring and the role of estimated breeding value analysis. *New Zealand Veterinary Journal*, 63(2): 69–78.
- SOUZA, A. F.; TUDURY, E. (2003). Displasia coxofemoral: diagnóstico clínico e radiográfico - revisão. *Clinica Veterinária*, 47 (8), 54–66.
- SYRCLE, J. (2017). Hip Dysplasia: Clinical Signs and Physical Examination Findings. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4): 769–775.
- TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4): 663–676.

- TORRES, R. C. S., FERREIRA, P. M., ARAÚJO, R. B., & MARTINS, A. S. (1999). Presença de Linha Morgan como indicador de displasia coxofemoral em cães da raça Pastor-Alemão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51(2): 157–158.
- TOSCA, L.; FERAUD, O.; MAGNIEZ, A.; BAS, C.; GRISCELLI, F.; BENNACEUR-GRISCELLI, A.; TACHDJIAN, G. (2015). Genomic instability of human embryonic stem cell lines using different passaging culture methods. *Molecular Cytogenetics*, 8(1): 30.
- VALLONE, V. B. F.; ROMANIUK, M. A.; CHOI, H.; LABOVSKY, V.; OTAEGUI, J.; CHASSEING, N. A. (2013). Mesenchymal stem cells and their use in therapy: What has been achieved? *Differentiation*, 85(2): 1–10.
- VAUGHAN, L. C.; JONES, D. G.; LANE, J. G. (1975). Pectineus muscle resection as a treatment for hip dysplasia in dogs. *The Veterinary Record*, 96(7): 145–8.
- VERHOEVEN, G.; FORTRIE, R.; VAN RYSSSEN, B.; COOPMAN, F. (2012). Worldwide Screening for Canine Hip Dysplasia: Where Are We Now? *Veterinary Surgery*, 41(1): 10–19.
- VEZZONI, A. (2017). Complications of Double and Triple Pelvic Osteotomies. In *Complications in Small Animal Surgery* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 759–777.
- VEZZONI, A.; DRAVELLI, G.; VEZZONI, L.; DE LORENZI, M.; CORBARI, A.; CIRLA, A.; TRANQUILLO, V. (2008). Comparison of conservative management and juvenile pubic symphysiodesis in the early treatment of canine hip dysplasia. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 21(3): 267–79.
- VILAR, J. M.; BATISTA, M.; MORALES, M.; SANTANA, A.; CUERVO, B.; RUBIO, M.; CARRILLO, J. M. (2014). Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Veterinary Research*, 10, 143.
- VOLK, S. W.; THEORET, C. (2013). Translating stem cell therapies: the role of companion animals in regenerative medicine. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 21(3): 382–94.
- VOLK, S. W., WANG, Y., & HANKENSON, K. D. (2012). Effects of Donor Characteristics and Ex Vivo Expansion on Canine Mesenchymal Stem Cell Properties: Implications for MSC-Based Therapies. *Cell Transplantation*, 21(10): 2189–2200.
- WAGERS, A. J., & WEISSMAN, I. L. (2004). Plasticity of Adult Stem Cells. *Cell*, 116(5): 639–648.
- WEBB, T. L., QUIMBY, J. M., & DOW, S. W. (2012). In vitro comparison of feline bone marrow-derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(2): 165–168.
- WHITWORTH, D. J., & BANKS, T. A. (2014). Stem cell therapies for treating osteoarthritis: Prescient or premature? *The Veterinary Journal*, 202(3): 416–424.

- WITSBERGER, T. H.; VILLAMIL, J. A.; SCHULTZ, L. G.; HAHN, A. W.; COOK, J. L. (2008). Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(12): 1818–1824.
- XU, S.; ZHANG, L.; JIN, H.; SHAN, L.; ZHOU, L.; XIAO, L.; TONG, P. (2017). Autologous Stem Cells Combined Core Decompression for Treatment of Avascular Necrosis of the Femoral Head: A Systematic Meta-Analysis. *BioMed Research International*, 1-11.
- YAYGINGUL, R.; SARIERLER, M. (2013). Clinical, Radiological and Computed Tomographic Evaluations of the Effect of Triple Pelvic Osteotomy for Treatment of Canine Hip Dysplasia. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 19, 133-139.
- YE, L.; SWINGEN, C.; ZHANG, J. (2013). Induced pluripotent stem cells and their potential for basic and clinical sciences. *Current Cardiology Reviews*, 9(1), 63–72.
- ZHANG, Z.; ZHU, L., SANDLER, J.; FRIEDENBERG, S. S.; EGELHOFF, J.; WILLIAMS, A. J.; TODHUNTER, R. J. (2009). Estimation of heritabilities, genetic correlations, and breeding values of four traits that collectively define hip dysplasia in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 70(4): 483–492.
- ZHU, L.; ZHANG, Z.; FRIEDENBERG, S.; JUNG, S.W.; PHAVAPHUTANON, J.; VERNIER-SINGER, M.; TODHUNTER, R. (2009). The long (and winding) road to gene discovery for canine hip dysplasia. *The Veterinary Journal*, 181(2): 97–110.
- ZIEGLER, J.; KOPF, N. (2016). Ergebnisse der Dreifachen Beckenosteotomie mit Pfannendachschwenkung zur Behandlung der juvenilen Hüftgelenksdysplasie beim Hund - Eine retrospektive Studie, 103(4), 102–114.

APÊNDICES



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) _____

_____ para participar da Pesquisa intitulada, **“Utilização de células-tronco mesenquimais alógenas no tratamento de Displasia Coxofemoral em cães**, sob a responsabilidade do pesquisador Marcelo Weinstein Teixeira, a qual pretende avaliar a utilização de células-tronco no tratamento de doenças que acometem as articulações de animais. Sua participação com seu animal particular é voluntária e se dará por meio da contribuição através de análise do animal no seu dia a dia e preenchimento de questionários que visam avaliar as melhorias advindas das células-tronco.

Os riscos da participação dos seu (s) animal (is) na pesquisa são decorrentes do procedimento anestésico. Se você aceitar participar, os resultados decorrentes do estudo com seu (s) animal (is) estará contribuindo para possíveis melhorias quanto ao perfil de claudicação e dor dos animais.

Se depois de consentir em sua participação o (a) Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem prejuízo a sua pessoa.

O (a) Sr (a) não terá despesas e também não receberá remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade e de seu (s) animal (is) não serão divulgadas, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900 – Recife/PE, pelo telefone (81) (33205416).

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, fui informado sobre o projeto **“Utilização de células-tronco mesenquimais alógenas no tratamento de Displasia Coxofemoral em cães”**, o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser.

Este documento foi emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Data: ___/___/___

Assinatura do participante
Impressão do dedo polegar
Caso não saiba assinar

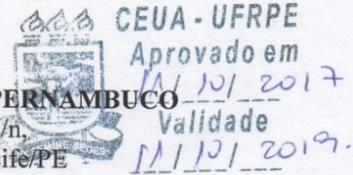
Assinatura do Pesquisador Responsável

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,
Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE



Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – D11
Licença condicional para o uso de animais em experimentação e/ou ensino

A Comissão de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	097/2017
Número do processo	23082.010283/2017-97
Data de emissão da licença	11 de outubro de 2017.
Título do Projeto	Utilização de células-tronco mesenquimais alógenas no tratamento de Displasia Coxofemoral em cães.
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão)	Pesquisa.
Responsável pela execução do projeto	Marcelo Weinstein Teixeira.
Colaboradores	Jackson de Oliveira Siqueira; Filipe Cássio Silva de Lima.
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Espécie: cão. Linhagem: SDR. Idade: 2 a 6 anos. Peso aprox.: 20 a 40kg. Quantidade: machos. Machos + fêmeas = 20. Total = 20.

Prof. Dra. Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim
(Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA /UFRPE)

Prof.ª Dr.ª Marleyne Amorim
Presidente CEUA/UFRPE
SIAPE 384977