

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 05/02/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALOGÊNICAS EM
CÃES COM MENINGOENCEFALOMIELITE DE ORIGEM DESCONHECIDA

Giovana Boff Sánchez

Botucatu - SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALOGÊNICAS EM
CÃES COM MENINGOENCEFALOMIELITE DE ORIGEM DESCONHECIDA

Giovana Boff Sánchez

Tese apresentada junto ao Programa
de Pós-graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins
Amorim

Botucatu - SP
2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Sánchez, Giovana Boff.

Transplante de células-tronco mesenquimais alogênicas em cães com meningoencefalomielite de origem desconhecida / Giovana Boff Sánchez. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Rogério Martins Amorim
Capes: 50501062

1. Cães - Doenças. 2. Transplante de células-tronco mesenquimais. 3. Doenças autoimunes. 4. Meningoencefalite. 5. Neuroimunomodulação.

Palavras-chave: Doenças autoimunes desmielinizantes do SNC; Intratecal; Meningoencefalite; Neuroimunomodulação; Terapia celular.

Nome do Autor: Giovana Boff Sánchez

Título: TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALOGÊNICAS EM CÃES COM MENINGOENCEFALOMIELITE DE ORIGEM DESCONHECIDA

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu.

Prof^a. Dr^a Elenice Deffune

Membro

Laboratório de Engenharia Celular do Hemocentro de Botucatu. Departamento de Urologia, Faculdade de Medicina - UNESP/Botucatu.

Prof^a. Dr^a Ana Liz Garcia Alves

Membro

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Botucatu.

Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira

Membro

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

Prof. Dr Jose Ademar Villanova Junior

Membro

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Escola de Ciências da Vida.

Data da Defesa: 05/02/2021.

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais Eliana Boff e Celso Araujo Pinto, meu irmão Gabriel Boff Araujo Pinto e meus avós Wanda Boff e Mario João Boff pelo afeto incondicional e apoio constante em todos os momentos da minha vida. Ao meu marido, amigo e colega de trabalho Diego Noé Rodríguez Sánchez por seu afeto, apoio e colaboração e nesta jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Martins Amorim pela orientação, ensinamentos, incentivo e confiança.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pelo apoio financeiro com a bolsa de Doutorado (Processo 2018/3101-8).

À Prof^a. Dr^a. Elenice Deffune pela contribuição intelectual e por ceder as instalações do seu laboratório para a realização das análises *in vitro*. À Dra. Majorie de A. Golim e Alline Márcia M. Braz pela contribuição nas análises imunofenotípicas.

Às assistentes de suporte acadêmico/UNIPEX Vickeline N. Androcioli e Ana Paula D. P. da Cruz por auxiliarem nas etapas de cultivo celular e aos técnicos Thiago-FOB-Bauru por colaborar com as análises multiplexadas e Heraldo André Catalan pela realização das imagens de Ressonância Magnética dos cães.

À Prof^a. Dr^a. Clélia Akiko Hiruma Lima e por ceder as instalações e equipamentos do seu laboratório e aos seus orientados Maycon T. E. Silva e Vinicius P. Rodrigues pelo auxílio nas análises *in vitro*.

Aos colegas Mariana Cristina Ramos, Felipe Sanchez, Ana Livia Bovolato e César P. C. Lobo e aos residentes do Hospital Veterinário de Pequenos Animais da FMVZ pela colaboração em diferentes etapas deste trabalho. A todos professores, funcionários, colegas e amigos do laboratório de engenharia celular-LEC, da unidade de pesquisa experimental-UNIPEX e do Serviço de Neurologia da FMVZ-UNESP que contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

Aos tutores dos cães participantes que acreditaram neste estudo permitindo a sua realização.

À FMVZ-UNESP-Botucatu pela possibilidade de realizar a este Curso de pós-graduação e por ceder suas instalações e serviços para que esse trabalho pudesse ser realizado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

40d	Momento experimental 40 dias pós-tratamento/transplante
80d	Momento experimental 80 dias pós-tratamento/transplante
ACZ	Acetazolamida
Ad-MSCs	Células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo, do inglês <i>adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells</i>
ALT	Alanino aminotransferase
anti-GFAP	Anticorpos contra proteína ácida fibrilar glial, do inglês <i>anti- glial fibrillary acidic protein</i>
APCs	Células apresentadoras de antígeno, do inglês <i>antigen presenting cells</i>
Ara-C	Citarabina ou arabinosídeo de citosina, do inglês <i>arabinoside cytosine</i>
AZA	Azatioprina
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BHE	Barreira hematoencefálica
BM-MSCs	Células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea, do inglês <i>bone marrow mesenchymal stromal/stem cells</i>
C1-C5, C6-T2, T3-L3	Segmentos medulares C1-C5, C6-T2, T3-L3
CB	Cérebro
CD	Grupamento de diferenciação, do inglês <i>cluster of differentiation</i>
CD (cél.)	Células dendríticas/ <i>dendritic cells</i> (DC)
CL	Cerebelo
cMSC (grupo)	Grupo experimental de cães tratado com células-tronco mesenquimais alogênicas do tecido adiposo
COX-1, 2	Ciclo-oxigenase 1, 2 (enzima)
CTCN	Contagem total de células nucleadas do líquido cefalorraquidiano
CTL	Linfócitos T citotóxicos, do inglês <i>cytotoxic T lymphocytes</i>
DBPS	<i>Dulbecco's phosphate-buffered saline</i>
DLA-II	Antígeno leucocitário canino de classe II, do inglês <i>dog leukocyte antigen class II</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMTs	Terapias modificadoras de doença, do inglês <i>modifying therapies disease</i>

E	Estimação do número de eritrócitos ou concentração de proteínas do líquido cefalorraquidiano
EAE	Encefalomielite autoimune experimental, do inglês <i>experimental autoimmune encephalomyelitis</i>
ECB	Esclerose concêntrica de Baló
EDM	Presença de edema perilesional nas imagens de ressonância magnética
EDSS	Escala expandida do estado de incapacidade, do inglês <i>expanded disability status scale</i>
EFM	Presença de efeito de massa nas imagens de ressonância magnética
ELISA	Ensaio de imunoadsorção enzimática, do inglês <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
EM	Esclerose múltipla
EMDA	Encefalomielite disseminada aguda
EMPP	Esclerose múltipla primária progressiva
EMPR	Esclerose múltipla progressiva recorrente
EMRR	Esclerose múltipla remitente recorrente
EMSP	Esclerose múltipla secundária progressiva
ER	Número de eritrócitos no líquido cefalorraquidiano e hemograma
EROS	Espécies reativas de oxigênio/ <i>reactive oxygen species</i> (ROS)
FA	Fosfatase alcalina
FLAIR	Sequência de recuperação de inversão atenuada por fluido, do inglês <i>fluid attenuation inversion recovery</i>
FM	Herniação no forame magno nas imagens de ressonância magnética
FURO	Furosemida
GABAP	Gabapentina
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, do inglês <i>glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>
GDNF	Fator neurotrófico derivado da glia, do inglês <i>glial cell line-derived neurotrophic factor</i>
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial, do inglês <i>glial fibrillary acidic protein</i>
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, do inglês <i>granulocyte macrophage colony-stimulating factor</i>
HER	Presença de herniações nas imagens de ressonância magnética
HGF	Fator de crescimento de hepatócitos, do inglês <i>hepatocyte growth factor</i>

HIPER	Hiperintensidade na sequência estudada nas imagens de ressonância magnética
HIPO	Hipointensidade na sequência estudada nas imagens de ressonância magnética
HLA-II	Antígeno leucocitário humano de classe II, do inglês <i>human leukocyte antigen class II</i>
HO	Hemoxigenase, do inglês <i>hemoxygenase</i>
HPRT	Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase, do inglês <i>hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase</i>
IA (via)	Via intra-arterial
IDO	Indoleamina 2,3- dioxigenase, do inglês <i>indoleamine 2 3-dioxygenase</i>
IFN-β	Interferon beta
IFN-γ	Interferon gama
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IL7R	Receptor da interleucina -7, do inglês <i>interleukin-7 receptor</i>
INF	Líquido cefalorraquidiano inflamatório
IP (via)	Via intra-parenquimatosa
ISCT	Sociedade Internacional para Terapia Celular, do inglês <i>International Society for Cellular Therapy</i>
ISO	Isointensidade na sequência estudada nas imagens de ressonância magnética
IT (via)	Via intratecal
IV (via)	Via intravenosa
KBr	Brometo de potássio
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LEN	Leucoencefalite necrosante, do inglês <i>necrotizing leucoencephalitis</i>
LEV	Levetiracetam
M	Momento experimental correspondente ao estudo <i>in vivo</i>
M1	Macrófagos/micróglia anti-inflamatórios
M2	Macrófagos/micróglia pró-inflamatórios
MARE	Meningite-arterite responsiva a esteroides
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos-1, do inglês <i>monocyte chemoattractant protein-1</i>

ME	Meningoencefalite eosinofílica
MEG	Meningoencefalomielite granulomatosa
MEN	Meningoencefalite necrosante
MERT	Escala de Resposta ao Tratamento para Cães com MUO
MHC-I	Complexo principal de histocompatibilidade tipo I, do inglês <i>major histocompatibility complex type I</i>
MHC-II	Complexo principal de histocompatibilidade tipo II, do inglês <i>major histocompatibility complex type II</i>
MSCs	Células-tronco mesenquimais, do inglês <i>mesenchymal stem cells</i>
MUO	Meningoencefalomielite de origem desconhecida, do inglês <i>meningoencephalomyelitis of unknown origin</i>
N-INF	Líquido cefalorraquidiano não-inflamatório
N/a	Não se aplica
Nº LES	Número de lesões no(s) segmento(s) das imagens de ressonância magnética
NK (células)	Células <i>natural killer</i> , do inglês <i>natural killer cells</i>
NL	Neurolocalização das lesões nas imagens de ressonância magnética
OME	Omeprazol
ON	Óxido nítrico (NO)/ <i>nitric oxide</i> (ON)
P0, P1-P3	Passagem das MSCs após o isolamento (passagem zero, 1-3)
PAC (grupo)	Grupo experimental de cães tratados com protocolo de citarabina e prednisona
PB	Fenobarbital, do inglês <i>phenobarbital</i>
PGE₂	Prostaglandina E ₂ , do inglês <i>prostaglandin E₂</i>
PMSCs	Células-tronco mesenquimais derivadas da placenta, do inglês <i>placental-derived mesenchymal stromal/stem cells</i>
PRAZ	Prazozina
Pré	Momento experimental pré-transplante do estudo <i>in vivo</i>
PRED	Prednisona
PT	Dosagem de proteínas totais do líquido cefalorraquidiano
PTGES2	Prostaglandina-endoperoxidase sintase 2, do inglês <i>prostaglandin endoperoxide synthase-2</i>
qPCR	Reação de polimerização em cadeia em tempo real quantitativa, do inglês <i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>

RAN	Ranitidina
RM	Ressonância magnética
RPS19	Proteína ribossomal S19
RPS5	Proteína ribossomal S5
SC (via)	Via subcutânea
SCF	Sucralfato
SFAL	Herniação no subfalcina nas imagens de ressonância magnética
SNC	Sistema nervoso central
T1-W	Sequência de tempo ponderado em T1, do inglês <i>T1-weighted sequence</i>
T1-W C+	Captção de contraste intravenoso na sequência de tempo ponderado em T1
T2-W	Sequência de tempo ponderado em T2, do inglês <i>T2-weighted sequence</i>
TAL	Tálamo
TAL-C	Tálamo-cortical
TD	Tempo desde os sinais clínicos serem notados pela primeira vez pelo tutor até o diagnóstico do animal
TE	Tronco encefálico
TGF-β	Fator de transformação do crescimento beta, do inglês <i>transforming growth factor beta</i>
Th	Linfócitos T auxiliares, do inglês <i>T helper cells</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa, do inglês <i>tumor necrosis factor alpha</i>
TRD	Tramadol
T_{reg}	Linfócitos T regulatórios, do inglês <i>regulatory T cells</i>
V/H	Presença de hidrocefalia ou ventriculomegalia nas imagens de ressonância magnética
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular, do inglês <i>vascular endothelial growth factor</i>
VO (via)	Via oral

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Predisposições dos subtipos histopatológicos da MUO.....	23
QUADRO 2. Iniciadores utilizados nas reações de qPCR.....	47
QUADRO 3. Condições de termociclagem das amplificações por qPCR.....	47
QUADRO 4. Via de transplante de Ad-MSCs utilizada nos cães do grupo cMSC.....	53
QUADRO 5. Escala de Ressonância Magnética para Cães com MUO (ERM).	57
QUADRO 6. Escala de Resposta ao Tratamento para Cães com MUO (MERT).	59
QUADRO 7. Resultados da Escala EDN dos grupos PAC e cMSC.	78
QUADRO 8. Resultados da Escala ERM dos grupos PAC e cMSC.....	82
QUADRO 9. Avaliação da resposta ao tratamento dos grupos PAC e cMSC pela escala MERT.	91
QUADRO 10. Efeitos adversos manifestados após os transplantes de Ad-MSCs no grupo cMSC.	92

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Mecanismo proposto de polarização dos macrófagos/micróglias na MUO.	26
FIGURA 2. Potenciais efeitos imunomoduladores das MSCs.	31
FIGURA 3. Potenciais mecanismos das MSCs na neurodegeneração.	33
FIGURA 4. Delineamento experimental do estudo in vivo.	51
FIGURA 5. Protocolo de imunossupressão utilizado no grupo PAC.	52
FIGURA 6. Imagem representativa do transplante de Ad-MSCs do grupo cMSC pela via intratecal.	54
FIGURA 7. Aparência microscópica das Ad-MSCs e PMSCs caninas após isolamento.	63
FIGURA 8. Caracterização imunofenotípica (A) e capacidade de diferenciação (B) das Ad-MSCs caninas.	66
FIGURA 9. Caracterização imunofenotípica (A) e capacidade de diferenciação (B) das PMSCs caninas.	68
FIGURA 10. Ad-MSCs (A-C) e PMSCs (D-F) caninas após a estimulação in vitro com INF- γ (B, E) e INF- γ combinado com TNF- α (C, F) e controles (A, D).	69
FIGURA 11. Expressão gênica relativa de BDNF, GDNF, HGF, IL-10, IDO, e PTGES2 após a estimulação das Ad-MSCs e PMSCs caninas com INF- γ e INF- γ combinado com TNF- α	72
FIGURA 12. Perfil de secreção de GM-CSF, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 e MCP-1 após a estimulação das Ad-MSCs e PMSCs caninas com INF- γ e INF- γ combinado com TNF- α	74
FIGURA 13. Avaliação da recuperação funcional cães dos grupos PAC e cMSC pela Escala EDN.	77
FIGURA 14. Avaliação neurológica dos cães 4 (A, B), 7 (C, D) e 12 (E, F) do grupo PAC, no pré-tratamento (A, C, E) e 80 dias pós-tratamento (B, D, F).	79
FIGURA 15. Avaliação neurológica dos cães 5 (A, B) e 8 (C, D) e 10 (E, F) do grupo cMSC, no pré-tratamento (A, C, E) e 80 dias pós-tratamento (B, D, F).	80

FIGURA 16. Imagens de RM da região cervical do cão 4 do grupo PAC no momento pré-tratamento (A-C) e 80 dias pós-tratamento (D-F), nos planos sagital (A, B, D, E) e transversal (C, F).....	83
FIGURA 17. Imagens de RM do encéfalo do cão 7 do grupo PAC nos momentos pré-tratamento (A-E) e 80 dias pós-tratamento (F-J) nos planos sagital (A, F) e transversal (B, C, D, E, G, H, I, J), na sequência de tempo ponderado em T2.	84
FIGURA 18. Imagens de RM do encéfalo do cão 12 do grupo PAC nos momentos pré-tratamento (A-E) e 80 dias pós-tratamento (F-J), nos planos sagital (A, E) e transversal (B, C, D, F, G, H).....	85
FIGURA 19. Imagens de RM do encéfalo do cão 5 do grupo cMSC nos momentos pré-transplante (A-D) e 80 dias pós-transplante (E-H), nos cortes sagital (A, E) e transversal (B, C, D, F, G, H).....	86
FIGURA 20. Imagens de RM do encéfalo do cão 8 do grupo cMSC nos momentos pré-transplante (A-C) e 80 dias pós-transplante (D-F), no corte transversal.	87
FIGURA 21. Imagens de RM do encéfalo do cão 10 do grupo cMSC nos momentos pré-transplante (A-C) e 80 dias pós-transplante (D-F), nos cortes sagital (A, B) e transversal (B, C, D, F, G, H), na sequência tempo ponderado em T2.....	88
FIGURA 22. Análise do LCR nos momentos pré-tratamento e 80 dias pós-tratamento dos grupos PAC e cMSC.	89
FIGURA 23. Parâmetros hematológicos nos momentos pré-tratamento e aos 40 dias e 80 dias pós-tratamento dos grupos PAC e cMSC.....	93
FIGURA 24. Parâmetros bioquímicos nos momentos pré-tratamento e aos 40 dias e 80 dias pós-tratamento dos grupos PAC e cMSC.....	94

SUMÁRIO

RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 Meningoencefalomielite de Origem Desconhecida (MUO)	23
2.1.1 Etiopatogenia e Mecanismos de Neuroinflamação e Neurodegeneração....	24
2.1.2 Tratamento e Prognóstico	28
2.2 Células Tronco Mesenquimais (MSCs).....	30
2.2.1 Potencial Terapêutico para Doenças Neuroimunes	30
2.2.2 MSCs: Fontes de obtenção, Imunoevasão e Potencialização dos Efeitos Terapêuticos	34
3 OBJETIVOS.....	39
3.1 Objetivo Geral	39
3.2 Objetivos Específicos.....	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Estudo <i>in vitro</i>.....	41
4.1.1 Coleta do Tecido Adiposo Canino e Isolamento das Ad-MSCs.....	41
4.1.2 Coleta da Placenta Canina e Isolamento das PMSCs.....	42
4.1.3 Formação do Banco de Ad-MSCs e PMSCs caninas.....	43
4.1.4 Diferenciação em Linhagens Mesodermas e Análise Imunofenotípica das Ad-MSCs e PMSCs Caninas	43
4.1.5 Estimulação Direta das Ad-MSCs e PMSCs <i>in vitro</i> com IFN- γ e IFN- γ Combinado com TNF- α	45
4.1.6 Expressão Gênica de Citocinas Anti-inflamatórias e Fatores Neurotróficos das Ad-MSCs e PMSCs Estimuladas e Controles.....	46

4.1.7 Perfil de Secreção de Fatores Solúveis do Meio Condicionado das Ad-MSCs e PMSCs Estimuladas e Controles.....	48
4.2 Estudo <i>in vivo</i>	48
4.2.1 Animais e Momentos Experimentais	49
4.2.1.1 Grupo PAC.....	49
4.2.1.2 Grupo cMSC	50
4.2.2 Tratamento Imunossupressor e Terapia Celular	51
4.2.2.1 Grupo PAC.....	51
4.2.2.2 Grupo cMSC	52
4.2.3 Observações Adicionais	54
4.2.3 Acompanhamento: Parâmetros clínicos, Laboratoriais e de Imagem Avançada.....	55
4.2.3.1 Exclusão de Doenças Infecciosas	55
4.2.3.2 Avaliação da Recuperação Funcional	55
4.2.3.3 Avaliação da Redução das Lesões por Imagem de RM.....	56
4.2.3.4 Análise do LCR.....	57
4.2.3.5 Avaliação da Resposta ao Tratamento	59
4.2.3.6 Efeitos Adversos e Alterações Hematológicas e Bioquímicas	59
4.3 Análise Estatística	60
5 RESULTADOS	62
5.1 Estudo <i>in vitro</i>.....	62
5.1.1 Isolamento das Ad-MSCs e PMSCs caninas	62
5.1.2 Diferenciação em Linhagens Mesodermais e Análise Imunofenotípica das Ad-MSCs e PMSCs caninas	64
5.1.3 Estimulação Direta das Ad-MSCs e PMSCs com IFN- γ e IFN- γ combinado com TNF- α	69
5.1.3.1 Comportamento das Ad-MSCs e PMSCs após estimulação direta.....	69
5.1.3.2 Expressão Gênica de Citocinas e Fatores Neurotróficos pelas Ad-MSCs e PMSCs após estimulação direta.....	70
5.1.4 Perfil de secreção de fatores solúveis do meio condicionado das Ad-MSCs e PMSCs após estimulação <i>in vitro</i> com IFN- γ ou IFN- γ combinado com TNF- α	73

5.2 Estudo <i>in vivo</i>	75
5.2.1 Características Gerais dos Grupos Estudados.....	75
5.2.2 Localização Neuroanatômica e Sinais Clínicos.....	75
5.2.3 Avaliação da Recuperação Funcional	76
5.2.4 Avaliação da Redução das Lesões por Imagem de RM.....	81
5.2.6 Análise do LCR.....	89
5.2.7 Avaliação da Resposta ao Tratamento	90
5.2.8 Efeitos Adversos.....	90
5.2.9 Alterações Hematológicas e Bioquímicas	93
6 DISCUSSÃO	96
7 CONCLUSÕES	105
8 REFERÊNCIAS	107
ANEXOS	120
(A) Fármacos administrados nos cães dos grupos PAC e cMSC em associação com o respectivo tratamento	120
(B) Escala de Déficit Neurológico (EDN).....	121
(D) Características das imagens de ressonância magnética no pré-tratamento e aos 80 dias pós-tratamento do grupo PAC	124
(E) Características das imagens de ressonância magnética pré-transplante e 80 dias pós-transplante do grupo cMSC	126
(F) Análise do líquido cefalorraquidiano do pré-tratamento e 80 dias pós-tratamento dos grupos PAC e cMSC.	127
9 TRABALHO CIENTÍFICO	129

RESUMO

PINTO, G. B. A. Transplante de Células-tronco Mesenquimais Alogênicas em Cães com Meningoencefalomielite de Origem Desconhecida. Botucatu, 2021. 168 Páginas. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

A meningoencefalomielite de origem desconhecida (MUO) canina é uma doença neuroinflamatória de provável origem imunomediada, altamente debilitante, que apresenta prognóstico desfavorável e falha terapêutica com o uso de imunossupressores. As células-tronco mesenquimais (MSCs) são promissoras para o tratamento de doenças neuroimunes, porém, diferentes fontes podem apresentar variações no potencial imunomodulador e neuroprotetor. *In vitro*, avaliamos a expressão gênica de BDNF, GDNF, HGF, IDO, IL-10 e PTGES2 e o perfil secretório de IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF e MCP-1 de MSCs caninas derivadas do tecido adiposo (Ad-MSCs) e placenta (PMSCs) após estimulação única com INF- γ e combinada com INF- γ com TNF- α . *In vivo*, avaliamos a resposta terapêutica ao transplante de Ad-MSCs alogênicas em cães com MUO que apresentaram falha terapêutica ao tratamento imunossupressor. Grupo PAC: 12 cães com MUO tratados com o protocolo imunossupressor de citarabina (ara-C) e prednisona. Grupo cMSC: Cinco cães que apresentaram falha terapêutica tratados com dois transplantes de $2,5 \times 10^6$ Ad-MSCs pela via intratecal (IT) (totalizando seis transplantes) ou intravenosa (IV) (totalizando três transplantes), com intervalo de 40 dias. Avaliamos a recuperação funcional, redução das lesões inflamatórias por ressonância magnética (RM) e líquido cefalorraquidiano (LCR). *In vitro*, observamos aumento significativo na expressão de BDNF, GDNF, HGF e IDO pelas Ad-MSCs após as estimulações, e na expressão de IDO pelas PMSCs após a estimulação combinada. Houve tendência a maior expressão de IL-10 nas células estimuladas de ambas fontes. Houve aumento significativo na secreção de IL-6 pelas Ad-MSCs e de IL-8 pelas PMSCs após estimulação. *In vivo*, houve tendência a melhora funcional e dos parâmetros inflamatórios no LCR em ambos grupos, indicando efeitos positivos. No grupo cMSC, a maioria dos cães teve remissão parcial e eventos adversos leves foram observados em 4/6 animais após transplantes IT, sendo ausentes pela via IV. Todos os cães do grupo PAC desenvolveram efeitos adversos. Não houve diferenças significativas nas variáveis de hemograma e bioquímica dentro e entre os grupos. O transplante de Ad-MSCs alogênicas em cães com MUO demonstrou efeitos benéficos.

Palavras-chave: Doenças autoimunes desmielinizantes (SNC), Interleucinas, Meningoencefalite, Mielite, Neuroimunomodulação, Terapia Baseada em Células e Tecidos.

ABSTRACT

PINTO, G. B. A. Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Canine Meningoencephalomyelitis of Unknown Origin. Botucatu, 2021. 168 Pages. Doctoral Thesis. São Paulo State University (UNESP), Botucatu Campus.

Canine meningoencephalomyelitis of unknown origin (MUO) is an immune-mediated neuroinflammatory disease, highly debilitating, with poor prognosis and therapeutic failure. Mesenchymal stem cells (MSCs) are promising for the treatment of neuroimmune diseases. Different sources may present differences in the immunomodulatory/neuroprotective potential. *In vitro*, we evaluated the gene expression of BDNF, GDNF, HGF, IDO, IL-10 and PTGES2 and the secretory profile of IL-2, IL-6, IL-18, IL-10, GM-CSF and MCP-1 of canine MSCs derived from adipose tissue (Ad-MSCs) and placenta (PMSCs) after priming with the pro-inflammatory cytokines INF- γ alone and combined INF- γ and TNF- α . *In vivo*, we evaluated the clinical response to allogeneic Ad-MSCs transplantation in dogs with MUO. PAC group: 12 dogs treated with immunosuppressant cytarabine (ara-C) and prednisone. cMSC group: 5 dogs of PAC group with therapeutic failure were treated with 2.5×10^6 /kg Ad-MSCs by intrathecal (IT) (n = 6) or intravenous (IV) (n = 3) delivery routes (40 days of interval). Functional recovery and the reduction of inflammatory lesions by magnetic resonance imaging (MR) and cerebrospinal fluid (CSF) were evaluated. *In vitro*, there was significant increase of BDNF, GDNF, HGF and IDO expression by Ad-MSCs after priming and expression of IDO after combined priming by PMSCs. Ad-MSCs had a significant increase in the secretion of IL-6 and PMSCs of IL-8 after priming. *In vivo*, a trend towards functional improvement was observed in both groups after treatment. In the cMSC group, most dogs had partial remission and mild adverse events were observed in 4/6 animals after IT transplantations, being absent by IV. Clinical and laboratory variables showed no statistical differences. Allogeneic Ad-MSCs transplantation demonstrated beneficial effects in dogs with MUO.

Key-words: Cell- and Tissue-Based Therapy, Demyelinating Autoimmune Diseases (CNS), Interleukins, Meningoencephalitis, Myelitis, Neuroimmunomodulation.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A meningoencefalomielite de origem desconhecida (*meningoencephalomyelitis of unknown origin*, MUO) é considerada uma das causas mais comuns de doença inflamatória do sistema nervoso central (SNC) de cães (COATES; JEFFERY, 2014). É caracterizada por um grupo de doenças idiopáticas e não infecciosas que apresentam sinais neurológicos semelhantes e características histopatológicas distintas (CORNELIS et al., 2019; TALARICO; SCHATZBERG, 2010). As lesões neurológicas apresentam início agudo, evolução progressiva e geram sinais clínicos de meningoencefalite, meningoencefalomielite ou meningomielite (COATES; JEFFERY, 2014; CORNELIS et al., 2017).

O diagnóstico clínico se baseia no histórico, exame neurológico, e alterações das imagens de ressonância magnética (RM) e do líquido cefalorraquidiano (LCR) (COATES; JEFFERY, 2014; GRANGER; SMITH; JEFFERY, 2010). O diagnóstico definitivo dos subtipos é obtido por histopatologia (COATES; JEFFERY, 2014; GRANGER; SMITH; JEFFERY, 2010).

A etiopatogenia da MUO não é totalmente compreendida, entretanto, se hipotetiza que apresente origem autoimune pela identificação de células inflamatórias que expressam moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC-II) e devido a predominância de linfócitos T CD3+ nas lesões do SNC (COATES; JEFFERY, 2014; HIGGINS et al., 2008; KIPAR et al., 1998; PARK; UCHIDA; NAKAYAMA, 2012; SPITZBARTH; BAUMGÄRTNER; BEINEKE, 2012; SUZUKI et al., 2003). Fatores genéticos e ambientais também tem sido relacionados com o desenvolvimento da doença (HIGGINS et al., 2008; KIPAR et al., 1998; PARK; UCHIDA; NAKAYAMA, 2012; SUZUKI et al., 2003).

A esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune, crônica e multifocal do SNC, que afeta aproximadamente 2,5 milhões de pessoas no mundo, sendo uma das principais causas de deficiência funcional em jovens adultos (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015; FREEDMAN et al., 2010; HARRIS et al., 2018; MARTINO et al., 2010; PEGORETTI et al., 2018). O modelo animal de neuroinflamação mais utilizado para a EM é a encefalomielite autoimune experimental (EAE), sendo gerado ao produzir inflamação e desmielinização no SNC de murinos susceptíveis imunizados com proteínas específicas da mielina (CONSTANTINESCU et al., 2011; RAFEI et al., 2009a). Este

modelo contribuiu significativamente para o entendimento da EM, contudo, não abrange todas as características clínicas, patológicas e imunológicas da EM por apresentar tendência a direcionar uma resposta imune específica (CONSTANTINESCU et al., 2011; LASSMANN; BRADL, 2017). Interessantemente, a MUO tem sido correlacionada à EM em vários aspectos, visto que ambas apresentam características etiopatogênicas, histopatológicas, clínicas e radiológicas semelhantes e, desta forma, pode ser utilizada como um modelo experimental natural para a doença (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015; GREER et al., 2010; JEFFERY et al., 2017; MOON et al., 2015; PARK; UCHIDA; NAKAYAMA, 2012).

Para a MUO, a imunossupressão é o principal tratamento, baseando-se no uso de altas doses de corticosteroides geralmente associados a outros imunomoduladores e imunossupressores (CORNELIS et al., 2017). Entretanto, além de ocasionarem efeitos adversos, o efeito terapêutico obtido pode ser temporário ou ineficaz a longo prazo, acarretando em progressão da lesão e óbito em > 26% dos cães nos primeiros dias após o diagnóstico (CORNELIS; VOLK; DE DECKER, 2016b; FLEGEL et al., 2011; JUNG et al., 2013; LOWRIE; SMITH; GAROSI, 2013; WONG et al., 2010; ZARFOSS et al., 2006). De modo semelhante, atualmente não existe um tratamento que seja capaz de prevenir ou reverter efetivamente os processos neuroinflamatórios e neurodegenerativos presentes na EM (SCOLDING et al., 2017; WINGERCHUK; CARTER, 2014).

Neste contexto, a terapia celular baseada nas células-tronco mesenquimais (*mesenchymal stem cells*, MSCs) dispõe de um amplo potencial para o tratamento de doenças neuroimunes (PAUL; ANISIMOV, 2013; UCCELLI; MANCARDI, 2010). Além de apresentarem capacidade de modulação dos sistemas imunes inato e adaptativo, as MSCs estimulam o microambiente regenerativo mediadas, principalmente, pela secreção de fatores solúveis que estimulam angiogênese, neurogênese, sinaptogênese, e ativação astrocítica, e promovem efeitos anti-apoptóticos em neurônios e células da glia (ANDRZEJEWSKA; LUKOMSKA; JANOWSKI, 2019; CIERVO et al., 2017; PAUL; ANISIMOV, 2013; UCCELLI; LARONI; FREEDMAN, 2011).

No ambiente inflamatório, as MSCs adquirem fenótipo imunossupressor e incrementam sua capacidade de proliferação e condições de sobrevivência (NORONHA et al., 2019). Esta ativação pode ser alcançada *in vitro* por meio da estimulação com citocinas pró-inflamatórias, como interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), citocinas predominantes no ambiente neuroinflamatório de cães com MUO e humanos com EM (KIM et al., 2018; LE BLANC et al., 2003; PARK; UCHIDA;

NAKAYAMA, 2013; PARK et al., 2012; PEGORETTI et al., 2018; PRASANNA et al., 2010; SOSPEDRA; MARTIN, 2016).

Observações preliminares com MSCs humanas indicam que as propriedades terapêuticas das MSCs diferem entre as fontes celulares (MELIEF et al., 2013), porém, poucos estudos compararam a expressão e secreção de fatores solúveis de fontes de MSCs caninas. Neste âmbito, o estudo da expressão e secreção *in vitro* de fatores solúveis pelas MSCs caninas após a estimulação direta com IFN- γ e TNF- α constitui uma ferramenta em potencial para se avaliar a ação destas MSCs no ambiente similar ao da doença-alvo. Por meio de mecanismos imunomoduladores, imunossupressores, neuroprotetores e neurorregenerativos, o estudo das MSCs para o tratamento da MUO canina poderia se tratar de uma alternativa, além de fornecer informações translacionalmente relevantes para os ensaios clínicos da EM.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

O ambiente inflamatório incrementa a expressão gênica deIDO, BDNF, GDNF e HGF e aumenta a secreção de IL-6 pelas Ad-MSCs caninas e a expressão deIDO e secreção de IL-8 pelas PMSCs caninas.

O transplante de Ad-MSCs alogênicas pelas vias IT e IV em cães com MUO demonstrou efeitos benéficos e demonstrou ser tolerável.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

- ADAMO, P. F.; RYLANDER, H.; ADAMS, W. M. Ciclosporin use in multi-drug therapy for meningoencephalomyelitis of unknown aetiology in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 9, p. 486–496, 2007.
- AGGARWAL, S.; PITTENGER, M. F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. **Blood**, v. 105, n. 4, p. 1815–1822, 2005.
- AIRAKSINEN, M. S.; SAARMA, M. **The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value** *Nature Reviews Neuroscience*, 2002.
- AMORIM, R. M. et al. Placenta-derived multipotent mesenchymal stromal cells: a promising potential cell-based therapy for canine inflammatory brain disease. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 11, n. 1, p. 304, 22 dez. 2020.
- ANDERSON, P. et al. Allogeneic Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells Ameliorate Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Regulating Self-Reactive T Cell Responses and Dendritic Cell Function. **Stem Cells International**, v. 2017, p. 1–15, 2017.
- ANDRZEJEWSKA, A.; LUKOMSKA, B.; JANOWSKI, M. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. **STEM CELLS**, v. 37, n. 7, p. 855–864, jul. 2019.
- ANKRUM, J. A.; ONG, J. F.; KARP, J. M. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. **Nature biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 252–60, 2014.
- ARGIBAY, B. et al. Intraarterial route increases the risk of cerebral lesions after mesenchymal cell administration in animal model of ischemia. **Scientific Reports**, v. 7, n. December 2016, p. 1–17, 2017.
- ARZI, B. et al. Therapeutic Efficacy of Fresh, Autologous Mesenchymal Stem Cells for Severe Refractory Gingivostomatitis in Cats. **STEM CELLS Translational Medicine**, v. 5, n. 1, p. 75–86, 2016.
- BAGGIOLINI, M.; CLARK-LEWIS, I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. **FEBS letters**, v. 307, n. 1, p. 97–101, 27 jul. 1992.
- BAI, L. et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis. **Glia**, v. 57, n. 11, p. 1192–1203, 2009.
- BAI, L. et al. Hepatocyte growth factor mediates mesenchymal stem cell-induced recovery in multiple sclerosis models. **Nature Neuroscience**, 2012.
- BAILEY, C. S.; HIGGINS, R. J. Comparison of total white blood cell count and total protein content of lumbar and cisternal cerebrospinal fluid of healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 5, p. 1162–5, maio 1985.
- BARBER, R. M. et al. Identification of Risk Loci for Necrotizing Meningoencephalitis in Pug Dogs. **Journal of Heredity**, v. 102, n. 1, p. S40–S46, 2011.
- BARBER, R. M. et al. Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 26, n. 4, p. 962–8, 2012.
- BARLOW, S. et al. Comparison of human placenta- and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cells. **Stem Cells and Development**, 2008.
- BARTNER, L. R. et al. Testing for Bartonella ssp. DNA in cerebrospinal fluid of dogs with inflammatory central nervous system disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1983–1988, 2018.
- BECKMANN, K. et al. A newly designed radiation therapy protocol in combination with

- prednisolone as treatment for meningoencephalitis of unknown origin in dogs: a prospective pilot study introducing magnetic resonance spectroscopy as monitor tool. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 4, 2015.
- BEN-AMI, E.; BERRIH-AKNIN, S.; MILLER, A. Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 10, n. 7, p. 410–415, 2011.
- BERGLUND, A. K. et al. Immunoprivileged no more: Measuring the immunogenicity of allogeneic adult mesenchymal stem cells. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 8, n. 1, p. 1–7, 2017.
- BIBER, K.; OWENS, T.; BODDEKE, E. What is microglia neurotoxicity (Not)? **Glia**, v. 62, n. 6, p. 841–854, 2014.
- BITTERMANN, S. et al. Magnetic resonance imaging signs of presumed elevated intracranial pressure in dogs. **Veterinary Journal**, v. 201, n. 1, p. 101–108, 2014.
- BOHN, A. A. et al. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. **Veterinary clinical pathology**, v. 35, n. 3, p. 315–20, 2006.
- BOLTZE, J. et al. The dark side of the force - constraints and complications of cell therapies for stroke. **Frontiers in Neurology**, v. 6, 2015.
- CHANG, C.-J. et al. Placenta-Derived Multipotent Cells Exhibit Immunosuppressive Properties That Are Enhanced in the Presence of Interferon- γ . **Stem Cells**, v. 24, n. 11, p. 2466–2477, 2006.
- CHEN, J. et al. Therapeutic Benefit of Intravenous Administration of Bone Marrow Stromal Cells After Cerebral Ischemia in Rats. **Stroke**, v. 32, n. 4, p. 1005–1011, 2001.
- CHERUBINI, G. B. et al. Characteristics of magnetic resonance images of granulomatous meningoencephalomyelitis in 11 dogs. **The Veterinary record**, v. 159, n. 4, p. 110–5, 2006.
- CHOW, L. et al. Mechanisms of Immune Suppression Utilized by Canine Adipose and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. **Stem Cells and Development**, v. 26, n. 5, p. 374–389, 2017.
- CHUNG, D. J. et al. Osteogenic proliferation and differentiation of canine bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stromal cells and the influence of hypoxia. **Research in Veterinary Science**, v. 92, n. 1, p. 66–75, 2012.
- CIERVO, Y. et al. Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. **Molecular Neurodegeneration**, v. 12, n. 1, 2017.
- COATES, J. R. et al. Procarbazine as Adjunctive Therapy for Treatment of Dogs with Presumptive Antemortem Diagnosis of Granulomatous Meningoencephalomyelitis: 21 Cases (1998-2004). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 1, p. 100–106, 2007.
- COATES, J. R.; JEFFERY, N. D. Perspectives on meningoencephalomyelitis of unknown origin. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 44, n. 6, p. 1157–85, nov. 2014.
- CONNICK, P. et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: An open-label phase 2a proof-of-concept study. **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 2, p. 150–156, 2012.
- CONSTANTINESCU, C. S. et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1079–1106, 2011.
- COOPER, J. J. et al. Necrotizing meningoencephalitis in atypical dog breeds: a case series and literature review. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 28, n. 1, p. 198–203, 2014.

- CORCIONE, A. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. **Blood**, v. 107, n. 1, p. 367–372, 2006.
- CORDY, D. R. Canine granulomatous meningoencephalomyelitis. **Veterinary pathology**, v. 16, n. 3, p. 325–33, 1979.
- CORDY, D. R.; HOLLIDAY, T. A. A Necrotizing Meningoencephalitis of Pug Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 26, n. 3, p. 191–194, 1989.
- CORNELIS, I. et al. Clinical presentation, diagnostic findings and outcome in dogs diagnosed with presumptive spinal-only meningoencephalomyelitis of unknown origin. **Journal of Small Animal Practice**, v. 58, n. 3, p. 174–182, mar. 2017.
- CORNELIS, I. et al. Clinical presentation, diagnostic findings, prognostic factors, treatment and outcome in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin: A review. **The Veterinary Journal**, v. 244, p. 37–44, fev. 2019.
- CORNELIS, I.; VOLK, H. A.; DE DECKER, S. Clinical presentation, diagnostic findings and long-term survival in large breed dogs with meningoencephalitis of unknown aetiology. **Veterinary Record**, v. 179, n. 6, p. 147–147, 2016a.
- CORNELIS, I.; VOLK, H. A.; DE DECKER, S. Clinical presentation, diagnostic findings and long-term survival in large breed dogs with meningoencephalitis of unknown aetiology. **Veterinary Record**, v. 179, n. 6, p. 147–147, 6 ago. 2016b.
- CROOK, K. I. et al. The pharmacokinetics of cytarabine in dogs when administered via subcutaneous and continuous intravenous infusion routes. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 36, n. 4, p. 408–11, 2013.
- DAHBOUR, S. et al. Mesenchymal stem cells and conditioned media in the treatment of multiple sclerosis patients: Clinical, ophthalmological and radiological assessments of safety and efficacy. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 23, n. 11, p. 866–874, nov. 2017.
- DARSALIA, V. et al. Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 31, n. 1, p. 235–242, 2011.
- DE WITTE, S. F. H. et al. Toward development of mesenchymal stem cells for immunomodulatory therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. JAN, 2016.
- DENDROU, C. A.; FUGGER, L.; FRIESE, M. A. Immunopathology of multiple sclerosis. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 9, p. 545–558, 2015.
- DI TERLIZZI, R.; PLATT, S. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I – Function and composition. **The Veterinary Journal**, v. 172, n. 3, p. 422–431, 2006.
- DIAS, I. E. et al. Mesenchymal stem cells therapy in companion animals: useful for immune-mediated diseases? **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 1–14, 2019.
- DJOUAD, F. et al. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 25, n. 8, p. 2025–32, ago. 2007.
- DOMBROWSKI, Y. et al. Regulatory T cells promote myelin regeneration in the central nervous system. **Nature Neuroscience**, v. 20, p. 674, 13 mar. 2017.
- DOMINICI, M. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, n. 4, p. 315–7, 2006.
- DRAGO, D. et al. The stem cell secretome and its role in brain repair. **Biochimie**, v. 95, n. 12, p. 2271–2285, 2013.
- EARLY, P. J. et al. Plasma and serum concentrations of cytarabine administered via continuous intravenous infusion to dogs with meningoencephalomyelitis of unknown etiology. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 411–

414, ago. 2017.

ELEUTERI, S.; FIERABRACCI, A. Insights into the secretome of mesenchymal stem cells and its potential applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, 2019.

ELIOPOULOS, N. Allogeneic marrow stromal cells are immune rejected by MHC class I- and class II-mismatched recipient mice. **Blood**, v. 106, n. 13, p. 4057–4065, dez. 2005.

ELLWARDT, E.; ZIPP, F. Molecular mechanisms linking neuroinflammation and neurodegeneration in MS. **Experimental Neurology**, v. 262, n. Part A, p. 8–17, 2014.

ENGLISH, K. et al. IFN- γ and TNF- α differentially regulate immunomodulation by murine mesenchymal stem cells. **Immunology Letters**, v. 110, n. 2, p. 91–100, jun. 2007.

FAIELLA, W.; ATOUI, R. Immunotolerant Properties of Mesenchymal Stem Cells: Updated Review. **Stem Cells International**, v. 2016, p. 1–7, 2016.

FARMER, D. Placental stem cells: The promise of curing diseases before birth. **Placenta**, p. 10–12, abr. 2017.

FISCHER, U. M. et al. Pulmonary Passage is a Major Obstacle for Intravenous Stem Cell Delivery: The Pulmonary First-Pass Effect. **Stem Cells and Development**, v. 18, n. 5, p. 683–692, 2009.

FLEGEL, T. et al. Comparison of oral administration of lomustine and prednisolone or prednisolone alone as treatment for granulomatous meningoencephalomyelitis or necrotizing encephalitis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 3, p. 337–345, 2011.

FREEDMAN, M. S. et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell transplantation as a treatment for multiple sclerosis: consensus report of the International MSCT Study Group. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 16, n. 4, p. 503–510, 19 abr. 2010.

FRIESE, M. A.; SCHATTLING, B.; FUGGER, L. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, n. 4, p. 225–238, 2014.

GAO, S. et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce macrophage M2 polarization through the nuclear factor- κ B and signal transducer and activator of transcription 3 pathways. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 3, p. 366–375, 5 mar. 2014.

GERDONI, E. et al. Mesenchymal stem cells effectively modulate pathogenic immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Annals of Neurology**, v. 61, n. 3, p. 219–227, 2007.

GHANNAM, S. et al. Mesenchymal Stem Cells Inhibit Human Th17 Cell Differentiation and Function and Induce a T Regulatory Cell Phenotype. **The Journal of Immunology**, v. 185, n. 1, p. 302–312, 1 jul. 2010.

GHITZA, U. E. et al. **Role of BDNF and GDNF in drug reward and relapse: A review** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2010.

GRANGER, N.; SMITH, P. M.; JEFFERY, N. D. Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. **The Veterinary Journal**, v. 184, n. 3, p. 290–297, 2010.

GREER, K. A. et al. Necrotizing meningoencephalitis of Pug dogs associates with dog leukocyte antigen class II and resembles acute variant forms of multiple sclerosis. **Tissue antigens**, v. 76, n. 2, p. 110–8, 2010.

GREGORY, C. R. et al. Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. **Transplantation proceedings**, v. 30, n. 8, p. 4143–8, 1998.

GU, Y. et al. Endogenous IL-6 of mesenchymal stem cell improves behavioral outcome of hypoxic-ischemic brain damage neonatal rats by suppressing apoptosis in astrocyte.

Scientific Reports, v. 6, p. 1–16, 2016.

HARRIS, V. K. et al. Clinical and pathological effects of intrathecal injection of mesenchymal stem cell-derived neural progenitors in an experimental model of multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 313, n. 1–2, p. 167–177, 2012.

HARRIS, V. K. et al. Phase I Trial of Intrathecal Mesenchymal Stem Cell-derived Neural Progenitors in Progressive Multiple Sclerosis. **EBioMedicine**, v. 29, p. 23–30, 2018.

HEMEDA, H. et al. Interferon- γ and Tumor Necrosis Factor- α Differentially Affect Cytokine Expression and Migration Properties of Mesenchymal Stem Cells. **Stem Cells and Development**, v. 19, n. 5, p. 693–706, maio 2010.

HIGGINS, R. J. et al. Necrotizing meningoencephalitis in five Chihuahua dogs. **Veterinary Pathology**, v. 45, n. 3, p. 336–346, 2008.

HOFSTETTER, H. H. et al. Therapeutic efficacy of IL-17 neutralization in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. **Cellular Immunology**, 2005.

HONG, J. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates inhibition of virus-specific CD8⁺ T cell proliferation by human mesenchymal stromal cells. **Cytotherapy**, v. 18, n. 5, p. 621–629, maio 2016.

HOU, Y. et al. IL-8 enhances the angiogenic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells by increasing vascular endothelial growth factor. **Cell Biology International**, v. 38, n. 9, p. 1050–9, maio 2014.

HSIAO, S. T.-F. et al. Comparative Analysis of Paracrine Factor Expression in Human Adult Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow, Adipose, and Dermal Tissue. **Stem Cells and Development**, v. 21, n. 12, p. 2189–2203, 10 ago. 2012.

HUR, J. W. et al. Intrathecal transplantation of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells for treating spinal cord injury: A human trial. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 39, n. 6, p. 655–664, 2016.

HYUN, J.-W. et al. Utility of the Rio Score and Modified Rio Score in Korean Patients with Multiple Sclerosis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0129243, 26 maio 2015.

IN 'T ANKER, P. S. et al. Isolation of Mesenchymal Stem Cells of Fetal or Maternal Origin from Human Placenta. **Stem Cells**, v. 22, n. 7, p. 1338–1345, dez. 2004.

ISAKOVA, I. A. et al. Allo-Reactivity of Mesenchymal Stem Cells in Rhesus Macaques Is Dose and Haplotype Dependent and Limits Durable Cell Engraftment In Vivo. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e87238, 29 jan. 2014.

JAIN, N. C. Essentials of veterinary hematology. In: [s.l.] Philadelphia (Pa.): Lea and Febiger, 1993.

JEFFERY, N. D. Corticosteroid Use in Small Animal Neurology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 44, n. 6, p. 1059–1074, 2014.

JEFFERY, N. D. et al. The Association of Specific Constituents of the Fecal Microbiota with Immune-Mediated Brain Disease in Dogs. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170589, 2017.

JUNG, D.-I. et al. Unsuccessful Cyclosporine plus Prednisolone Therapy for Autoimmune Meningoencephalitis in Three Dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 12, p. 1661–1665, 2013.

JUNG, J. E.; KIM, G. S.; CHAN, P. H. Neuroprotection by Interleukin-6 Is Mediated by Signal Transducer and Activator of Transcription 3 and Antioxidative Signaling in Ischemic Stroke. **Stroke**, v. 42, n. 12, p. 3574–3579, dez. 2011.

JURA, J.; SKALNIAK, L.; KOJ, A. Monocyte chemotactic protein-1-induced protein-1 (MCP1) is a novel multifunctional modulator of inflammatory reactions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1823, n. 10, p. 1905–1913, out. 2012.

KALINSKI, P. Regulation of Immune Responses by Prostaglandin E 2. **The Journal of**

Immunology, v. 188, n. 1, p. 21–28, 1 jan. 2012.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, p. 661, 890–894, 1997.

KANG, B.-J. et al. Comparing the osteogenic potential of canine mesenchymal stem cells derived from adipose tissues, bone marrow, umbilical cord blood, and Wharton's jelly for treating bone defects. **Journal of Veterinary Science**, v. 13, n. 3, p. 299, 2012.

KANG, J. W. et al. Soluble Factors–Mediated Immunomodulatory Effects of Canine Adipose Tissue–Derived Mesenchymal Stem Cells. **Stem Cells and Development**, v. 17, n. 4, p. 681–694, ago. 2008.

KANG, M. H.; PARK, H. M. Evaluation of adverse reactions in dogs following intravenous mesenchymal stem cell transplantation. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 1, p. 16, 2014.

KARUSSIS, D. et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. **Archives of neurology**, v. 67, n. 10, p. 1187–94, 2010a.

KARUSSIS, D. et al. Safety and Immunological Effects of Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients With Multiple Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis. **Archives of Neurology**, v. 67, n. 10, p. 1187–1194, 1 out. 2010b.

KASSIS, I. et al. Neuroprotection and Immunomodulation With Mesenchymal Stem Cells in Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **Archives of Neurology**, v. 65, n. 6, p. 753–761, 1 jun. 2008.

KEAN, T. J. et al. MSCs: Delivery routes and engraftment, cell-targeting strategies, and immune modulation. **Stem Cells International**, v. 2013, 2013.

KEBIR, H. et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. **Nature Medicine**, v. 13, n. 10, p. 1173–1175, 9 nov. 2007.

KERSCHENSTEINER, M.; MEINL, E.; HOHLFELD, R. Neuro-immune crosstalk in CNS diseases. **Results and Problems in Cell Differentiation**, v. 51, n. 3, p. 197–216, 2010.

KIM, D. S. et al. Enhanced Immunosuppressive Properties of Human Mesenchymal Stem Cells Primed by Interferon- γ . **EBioMedicine**, v. 28, p. 261–273, 2018.

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

KIPAR, A. et al. Immunohistochemical Characterization of Inflammatory Cells in Brains of Dogs with Granulomatous Meningoencephalitis. **Vet Pathol**, v. 35, p. 43–52, 1998.

KISIEL, A. H. et al. Isolation, characterization, and in vitro proliferation of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 8, p. 1305–1317, 2012.

KOL, A. et al. Th17 pathway as a target for Multipotent stromal cell therapy in dogs: Implications for translational research. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. 1–14, 2016.

KREŠIĆ, N. et al. Canine Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells Transcriptome Composition Alterations: A Step towards Standardizing Therapeutic. **Stem Cells International**, 2017.

KURTZKE, J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). **Neurology**, v. 33, n. 11, p. 1444–1452, 1983.

LAHIANI, A. et al. Human PLacental eXpanded (PLX) mesenchymal-like adherent stromal cells confer neuroprotection to nerve growth factor (NGF)-differentiated PC12 cells exposed to ischemia by secretion of IL-6 and VEGF. **Biochimica et Biophysica**

Acta - Molecular Cell Research, v. 1853, n. 2, p. 422–430, 2015.

LALU, M. M. et al. Safety of Cell Therapy with Mesenchymal Stromal Cells (SafeCell): A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e47559, 25 out. 2012.

LANKFORD, L. et al. Early gestation chorionic villi-derived stromal cells for fetal tissue engineering. **World journal of stem cells**, v. 7, n. 1, p. 195–207, 2015.

LANKFORD, L. et al. Manufacture and preparation of human placenta-derived mesenchymal stromal cells for local tissue delivery. **Cytotherapy**, v. 19, n. 6, p. 680–688, 2017.

LANZA, C. et al. Neuroprotective mesenchymal stem cells are endowed with a potent antioxidant effect in vivo. **Journal of Neurochemistry**, v. 110, n. 5, p. 1674–1684, set. 2009.

LASSMANN, H.; BRADL, M. Multiple sclerosis: experimental models and reality. **Acta Neuropathologica**, v. 133, n. 2, p. 223–244, 2017.

LAUBNER, S. et al. Magnetic resonance imaging signs of high intraventricular pressure - comparison of findings in dogs with clinically relevant internal hydrocephalus and asymptomatic dogs with ventriculomegaly. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 181, dez. 2015.

LE BLANC, K. et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. **Experimental Hematology**, v. 31, n. 10, p. 890–896, 2003.

LE, T. et al. Regulation of interleukin-10 gene expression: Possible mechanisms accounting for its upregulation and for maturational differences in its expression by blood mononuclear cells. **Blood**, v. 89, n. 11, p. 4112–4119, 1997.

LEE, J. M. et al. Comparison of immunomodulatory effects of placenta mesenchymal stem cells with bone marrow and adipose mesenchymal stem cells. **International Immunopharmacology**, v. 13, n. 2, p. 219–224, 2012.

LEGLER, D. F.; THELEN, M. Chemokines: Chemistry, biochemistry and biological function. **Chimia**, v. 70, n. 12, p. 856–859, 2016.

LEIBACHER, J.; HENSCHLER, R. Biodistribution, migration and homing of systemically applied mesenchymal stem/stromal cells. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 7, n. 1, p. 7, 11 dez. 2016.

LEOCANI, L.; ROCCA, M. A.; COMI, G. MRI and neurophysiological measures to predict course, disability and treatment response in multiple sclerosis. **Current Opinion in Neurology**, v. 29, n. 3, p. 243–253, 2016.

LEWIS, M. J. et al. Clinical and Diagnostic Imaging Features of Brain Herniation in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 5, p. 1672–1680, 2016.

LI, A. et al. IL-8 Directly Enhanced Endothelial Cell Survival, Proliferation, and Matrix Metalloproteinases Production and Regulated Angiogenesis. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 6, p. 3369–3376, 2003.

LI, C. et al. Human-placenta-derived mesenchymal stem cells inhibit proliferation and function of allogeneic immune cells. **Cell and Tissue Research**, v. 330, n. 3, p. 437–446, 8 nov. 2007.

LIN, T. et al. Preconditioning of murine mesenchymal stem cells synergistically enhanced immunomodulation and osteogenesis. **Stem cell research & therapy**, v. 8, n. 1, p. 277, 2017.

LONG, C. et al. Isolation and characterization of canine placenta-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of neurological disorders in dogs. **Cytometry Part A**, n. 3, p. 7–9, 2017.

LONG, C. et al. Isolation and characterization of canine placenta-derived mesenchymal

- stromal cells for the treatment of neurological disorders in dogs. **Cytometry Part A**, v. 93, n. 1, p. 82–92, 2018.
- LORENZ, M. D. **Handbook of Veterinary Neurology**. 5th. ed. [s.l.] Elsevier Saunders, 2011.
- LOWRIE, M. et al. Effect of a constant rate infusion of cytosine arabinoside on mortality in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 213, p. 1–5, 2016.
- LOWRIE, M.; SMITH, P. M.; GAROSI, L. Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. **Veterinary Record**, v. 172, n. 20, p. 527–527, 2013.
- LUNA, A. C. L. et al. Characterization of adipose-derived stem cells of anatomical region from mice. **BMC research notes**, v. 7, n. 1, p. 552, 2014.
- LYCK, R.; ENGELHARDT, B. Going Against the Tide – How Encephalitogenic T Cells Breach the Blood-Brain Barrier. **Journal of Vascular Research**, v. 49, n. 6, p. 497–509, 2012.
- MADRIGAL, J. L. M. et al. Astrocyte-derived MCP-1 mediates neuroprotective effects of noradrenaline. **Journal of Neuroscience**, 2009.
- MANCARDI, G. L. et al. Autologous stem cell transplantation as rescue therapy in malignant forms of multiple sclerosis. **Mult Scler**, v. 11, n. 3, p. 367–371, 2005.
- MANCUSO, R. et al. Indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO) expression and activity in relapsing-remitting multiple sclerosis. **PLoS ONE**, 2015.
- MANSOOR, S. R.; ZABIHI, E.; GHASEMI-KASMAN, M. The potential use of mesenchymal stem cells for the treatment of multiple sclerosis. **Life Sciences**, v. 235, n. September, 2019.
- MARIA SPAGGIARI, G.; MORETTA, L. Cellular and molecular interactions of mesenchymal stem cells in innate immunity. **Immunology and Cell Biology**, v. 91, n. 1, p. 27–31, 2013.
- MARTINEZ, F. O. Macrophage activation and polarization. **Frontiers in Bioscience**, v. 13, n. 13, p. 453, 2008.
- MARTINO, G. et al. Stem cell transplantation in multiple sclerosis: current status and future prospects. **Nature Reviews Neurology**, v. 6, n. 5, p. 247–255, 2010.
- MASTROLIA, I. et al. Challenges in Clinical Development of Mesenchymal Stromal/Stem Cells: Concise Review. **STEM CELLS Translational Medicine**, v. 8, n. 11, p. 1135–1148, 16 nov. 2019.
- MATSUKI, N. et al. Prevalence of autoantibody in cerebrospinal fluids from dogs with various CNS diseases. **The Journal of veterinary medical science**, v. 66, n. 3, p. 295–7, 2004.
- MATYSIAK, M. et al. Stem cells ameliorate EAE via an indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) mechanism. **Journal of Neuroimmunology**, v. 193, n. 1–2, p. 12–23, 2008.
- MELIEF, S. M. et al. Adipose Tissue-Derived Multipotent Stromal Cells Have a Higher Immunomodulatory Capacity Than Their Bone Marrow-Derived Counterparts. **STEM CELLS Translational Medicine**, v. 2, n. 6, p. 455–463, 2013.
- MENAUT, P. et al. Treatment of 11 dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin with a combination of prednisolone and cytosine arabinoside. **Veterinary Record**, v. 162, p. 241–245, 2008.
- MEYER-MOOCK, S. et al. Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. **BMC Neurology**, 2014.
- MICHELUCCI, A. et al. Characterization of the microglial phenotype under specific pro-inflammatory and anti-inflammatory conditions: Effects of oligomeric and fibrillar

- amyloid-beta. **Journal of neuroimmunology**, v. 210, n. 1–2, p. 3–12, 29 maio 2009.
- MIX, E. et al. Animal models of multiple sclerosis-Potentials and limitations. **Progress in Neurobiology**, v. 92, n. 3, p. 386–404, 2010.
- MIYAKE, H. et al. Serum Glial Fibrillary Acidic Protein as a Specific Marker for Necrotizing Meningoencephalitis in Pug Dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 11, p. 1543–1545, 2013.
- MOMPARLER, R. L. Biochemical pharmacology of cytosine arabinoside. **Medical and Pediatric Oncology**, v. 10, n. 1 S, p. 45–48, 1982.
- MOON, J. H. et al. A study of experimental autoimmune encephalomyelitis in dogs as a disease model for canine necrotizing encephalitis. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, n. 2, p. 203–211, 2015.
- MUNANA, K. R.; LUTTGEN, P. J. Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 212, n. 12, p. 1902–6, 1998.
- NAKAMURA, T.; MIZUNO, S. The discovery of Hepatocyte Growth Factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. **Proceedings of the Japan Academy, Series B**, v. 86, n. 6, p. 588–610, 2010.
- NAUTA, A. J.; FIBBE, W. E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. **Blood**, v. 110, n. 10, p. 3499–3506, 2007.
- NAUTA, A. J.; FIBBE, W. E. Review in translational hematology Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. **Library**, v. 110, n. 10, p. 3499–3506, 2008.
- NEUPANE, M. et al. Isolation and Characterization of Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. **Tissue Engineering Part A**, v. 14, n. 6, p. 1007–1015, 2008.
- NIU, J. et al. Monocyte chemotactic protein (MCP)-1 promotes angiogenesis via a novel transcription factor, MCP-1-induced protein (MCPIP). **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 21, p. 14542–14551, 2008.
- NORONHA, N. D. C. et al. Correction to: Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 10, n. 1, p. 132, 2019.
- OH, K. W. et al. Repeated Intrathecal Mesenchymal Stem Cells for Amyotrophic Lateral Sclerosis. **Annals of Neurology**, v. 84, n. 3, p. 361–373, 2018.
- OLIPHANT, B. J.; BARNES HELLER, H. L.; WHITE, J. M. Retrospective study evaluating associations between midline brain shift on magnetic resonance imaging and survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown etiology. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 58, n. 1, p. 38–43, 2017.
- PAKOZDY, A. et al. Improved survival time in dogs with suspected GME treated with ciclosporin. **The Veterinary record**, v. 164, n. 3, p. 89–90, 2009.
- PARK, E. S.; UCHIDA, K.; NAKAYAMA, H. Comprehensive immunohistochemical studies on canine necrotizing meningoencephalitis (NME), necrotizing leukoencephalitis (NLE), and granulomatous meningoencephalomyelitis (GME). **Vet Pathol**, v. 49, n. 4, p. 682–692, 2012.
- PARK, E. S.; UCHIDA, K.; NAKAYAMA, H. Th1-, Th2-, and Th17-Related Cytokine and Chemokine Receptor mRNA and Protein Expression in the Brain Tissues, T Cells, and Macrophages of Dogs With Necrotizing and Granulomatous Meningoencephalitis. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 6, p. 1127–1134, 2013.
- PARK, S. B. et al. Isolation and Characterization of Canine Amniotic Membrane-Derived Multipotent Stem Cells. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. 1–9, 2012.
- PASTINA, B. et al. The pharmacokinetics of cytarabine administered subcutaneously, combined with prednisone, in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown etiology. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 41, n. 5, p. 638–643, 2018.

- PAUL, G.; ANISIMOV, S. V. The secretome of mesenchymal stem cells: Potential implications for neuroregeneration. **Biochimie**, v. 95, n. 12, p. 2246–2256, 2013.
- PEGORETTI, V. et al. Selective modulation of TNF-TNFRs signaling: Insights for multiple sclerosis treatment. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1–8, 2018.
- PODELL, M. et al. 2015 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Seizure Management in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 2, p. 477–490, 2016.
- PRASANNA, S. J. et al. Pro-Inflammatory Cytokines, IFN γ and TNF α , Influence Immune Properties of Human Bone Marrow and Wharton Jelly Mesenchymal Stem Cells Differentially. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9016, 2 fev. 2010.
- RAFEI, M. et al. Allogeneic Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **Molecular Therapy**, v. 17, n. 10, p. 1799–1803, 2009a.
- RAFEI, M. et al. Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. **Molecular Therapy**, v. 17, n. 10, p. 1799–1803, 2009b.
- ROBINSON, C. M.; HALE, P. T.; CARLIN, J. M. The Role of IFN- γ and TNF- α -Responsive Regulatory Elements in the Synergistic Induction of Indoleamine Dioxygenase. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 25, n. 1, p. 20–30, jan. 2005.
- RUSSELL, K. A. et al. Characterization and immunomodulatory effects of canine adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2016.
- SANCHEZ, D. N. R. et al. Effects of Canine and Murine Mesenchymal Stromal Cell Transplantation on Peripheral Nerve Regeneration. **International Journal of Stem Cells**, p. 1–10, 2017.
- SAPAROV, A. et al. Preconditioning of Human Mesenchymal Stem Cells to Enhance Their Regulation of the Immune Response. **Stem Cells International**, v. 2016, p. 1–10, 2016.
- SARESELLA, M. et al. Immunological and clinical effect of diet modulation of the gut microbiome in multiple sclerosis patients: A pilot study. **Frontiers in Immunology**, 2017.
- SATAKE, K.; LOU, J.; LENKE, L. G. Migration of mesenchymal stem cells through cerebrospinal fluid into injured spinal cord tissue. **Spine**, v. 29, n. 18, p. 1971–1979, 2004.
- SCHATZBERG, S. J. et al. Polymerase chain reaction screening for DNA viruses in paraffin-embedded brains from dogs with necrotizing meningoencephalitis, necrotizing leukoencephalitis, and granulomatous meningoencephalitis. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 19, n. 4, p. 553–9, 2005.
- SCHATZBERG, S. J. Idiopathic Granulomatous and Necrotizing Inflammatory Disorders of the Canine Central Nervous System. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 40, n. 1, p. 101–120, 2010.
- SCHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 5, p. 878–888, 2011.
- SCHRAUWEN, I. et al. Identification of novel genetic risk loci in maltese dogs with necrotizing meningoencephalitis and evidence of a shared genetic risk across toy dog breeds. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.
- SCOLDING, N. J. et al. Cell-based therapeutic strategies for multiple sclerosis. **Brain**, v. 140, n. 11, p. 2776–2796, 2017.
- SCOTT-MONCRIEFF, J. C. R. et al. Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of cytosine arabinoside in dogs. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, 1991.
- SEO, Y.; SHIN, T. H.; KIM, H. S. Current strategies to enhance adipose stem cell

- function: An update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 15, 2019.
- SHEBL, F. M. et al. Comparison of mRNA and protein measures of cytokines following vaccination with human papillomavirus-16 L1 virus-like particles. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 19, n. 4, p. 978–981, 2010.
- SHIBUYA, M. et al. Autoantibodies against glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluids from Pug dogs with necrotizing meningoencephalitis. **The Journal of veterinary medical science**, v. 69, n. 3, p. 241–5, 2007.
- SMITH, P. M. et al. Comparison of two regimens for the treatment of meningoencephalomyelitis of unknown etiology. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 23, n. 3, p. 520–6, 2009.
- SOLEYMANINEJADIAN, E.; PRAMANIK, K.; SAMADIAN, E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: Cytokines and factors. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 67, n. 1, p. 1–8, 2012.
- SORMANI, M. P. et al. Scoring treatment response in patients with relapsing multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, 2013.
- SORMANI, M. P. et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: A meta-analysis. **Neurology**, v. 88, n. 22, p. 2115–2122, 2017.
- SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology of multiple sclerosis. **Annual review of immunology**, v. 23, n. 02, p. 683–747, 2005.
- SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology of Multiple Sclerosis. **Seminars in Neurology**, v. 36, n. 2, p. 115–127, 2016.
- SPAGGIARI, G. M. et al. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: Central role of MSC-derived prostaglandin E2. **Blood**, v. 113, n. 26, p. 6576–6583, 2009.
- SPITZBARTH, I. et al. Immunohistochemical characterization of inflammatory and glial responses in a case of necrotizing leucoencephalitis in a french bulldog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 142, n. 2–3, p. 235–241, 2010.
- SPITZBARTH, I.; BAUMGÄRTNER, W.; BEINEKE, A. The role of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of spontaneous canine CNS diseases. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 147, n. 1–2, p. 6–24, 2012.
- STALIS, I. H. et al. Necrotizing Meningoencephalitis of Maltese Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 32, n. 3, p. 230–235, 1995.
- STRIOGA, M. et al. Same or Not the Same? Comparison of Adipose Tissue-Derived Versus Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem and Stromal Cells. **Stem Cells and Development**, v. 21, n. 14, p. 2724–2752, 2012.
- SU, J. et al. Phylogenetic distinction of iNOS and IDO function in mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression in mammalian species. **Cell Death & Differentiation**, v. 21, n. 3, p. 388–396, 25 mar. 2014.
- SUZUKI, M. et al. A Comparative Pathological Study on Canine Necrotizing Meningoencephalitis and Granulomatous Meningoencephalomyelitis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 11, p. 1233–1239, 2003.
- TALARICO, L. R.; SCHATZBERG, S. J. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 3, p. 138–149, 2010.
- TESMER, L. A. et al. Th17 cells in human disease. **Immunological Reviews**, v. 223, n. 1, p. 87–113, 2008.
- THOMAS, J. B.; EGER, C. Granulomatous meningoencephalomyelitis in 21 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p. 287–293, 1989.
- TIMMANN, D. et al. Necrotising encephalitis in a French bulldog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 6, p. 339–342, 2007.

- TIPOLD, A. et al. Necrotizing encephalitis in Yorkshire terriers. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, n. 12, p. 623–628, 1993.
- TISCHNER, D.; REICHARDT, H. M. Glucocorticoids in the control of neuroinflammation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 275, n. 1–2, p. 62–70, 2007.
- TODA, Y. et al. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and anti-GFAP autoantibody in canine necrotising meningoencephalitis. **Veterinary Record**, v. 161, n. 8, p. 261–264, 25 ago. 2007.
- TORRENTE, Y.; POLLI, E. Mesenchymal stem cell transplantation for neurodegenerative diseases. **Cell Transplant**, v. 17, n. 10–11, p. 1103–1113, 2008.
- TZARTOS, J. S. et al. Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. **American Journal of Pathology**, v. 172, n. 1, p. 146–155, 2008.
- UCCELLI, A.; LARONI, A.; FREEDMAN, M. S. Mesenchymal stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurological diseases. **The Lancet Neurology**, v. 10, n. 7, p. 649–656, 2011.
- UCCELLI, A.; MANCARDI, G. Stem cell transplantation in multiple sclerosis. **Current Opinion in Neurology**, v. 23, n. 3, p. 218–225, 2010.
- UCCELLI, A.; MORETTA, L.; PISTOIA, V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. **European journal of immunology**, v. 36, n. 10, p. 2566–73, 2006.
- UCHIDA, K. et al. Pathological and immunological features of canine necrotising meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalitis. **Veterinary Journal**, v. 213, p. 72–77, 2016.
- VERNAU, W.; VERNAU, K. A.; SUE BAILEY, C. Cerebrospinal Fluid. In: ELSEVIER (Ed.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th. ed. San Diego, California: Elsevier Inc., 2008. p. 769–819.
- VIEIRA, N. M. et al. Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. **Cell Transplantation**, v. 19, n. 3, p. 279–289, 2010.
- VIGO, T. et al. IFN β enhances mesenchymal stromal (Stem) cells immunomodulatory function through STAT1-3 activation and mTOR-associated promotion of glucose metabolism. **Cell Death and Disease**, v. 10, n. 2, 2019.
- VOGEL, C.; MARCOTTE, E. M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 4, p. 227–232, 2012.
- VOJNITS, K.; LI, Y. The current knowledge of immune privilege in stem cells. **Journal of Transplantation & Stem Cell Biology**, v. 1, n. 1, p. 1–4, 2014.
- WANG, A. et al. Placental Mesenchymal Stromal Cells Rescue Ambulation in Ovine Myelomeningocele. **STEM CELLS Translational Medicine**, v. 4, n. 6, p. 659–669, 2015.
- WEISHAUPT, N.; BLESCH, A.; FOUAD, K. **BDNF: The career of a multifaceted neurotrophin in spinal cord injury** *Experimental Neurology*, 2012.
- WILLIS, C. M. et al. The neural stem cell secretome and its role in brain repair. **Brain Research**, v. 1729, n. September 2019, p. 146615, 2020.
- WINGERCHUK, D. M.; CARTER, J. L. Multiple sclerosis: Current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 89, n. 2, p. 225–240, 2014.
- WONG, M. A et al. Evaluation of treatment with a combination of azathioprine and prednisone in dogs with meningoencephalomyelitis of undetermined etiology: 40 cases (2000-2007). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 237, n. 8,

p. 929–935, 2010.

WOOLCOCK, A. D. et al. Treatment of canine meningoencephalomyelitis of unknown aetiology with mycophenolate mofetil and corticosteroids: 25 cases (2007-2012). **Veterinary Medicine and Science**, v. 2, n. 2, p. 125–135, 2016.

YAMOUT, B. et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: A pilot study. **Journal of Neuroimmunology**, v. 227, n. 1–2, p. 185–189, 2010.

YANG, H.-M. et al. Canine mesenchymal stem cells treated with TNF- α and IFN- γ enhance anti-inflammatory effects through the COX-2/PGE2 pathway. **Research in Veterinary Science**, v. 119, n. October 2017, p. 19–26, 2018.

YOUSEFI, F. et al. Various strategies to improve efficacy of stem cell transplantation in multiple sclerosis: Focus on mesenchymal stem cells and neuroprotection. **Journal of Neuroimmunology**, v. 328, n. October 2018, p. 20–34, 2019.

ZANGI, L. et al. Direct Imaging of Immune Rejection and Memory Induction by Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells. **Stem Cells**, v. 27, n. 11, p. 2865–2874, 2009.

ZAPPIA, E. et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. **Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy**. v. 106, n. 5, p. 1755–1761, 2008.

ZARFOSS, M. et al. Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. **The Journal of small animal practice**, v. 47, n. 10, p. 588–95, 2006.

ZEIRA, O. et al. Adult autologous mesenchymal stem cells for the treatment of suspected non-infectious inflammatory diseases of the canine central nervous system: safety, feasibility and preliminary clinical findings. **Journal of Neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 181, 2015.

ZETTL, U. K.; STÜVE, O.; PATEJDL, R. Immune-mediated CNS diseases: A review on nosological classification and clinical features. **Autoimmunity Reviews**, v. 11, n. 3, p. 167–173, 2012.

ZHAN, X. S. et al. A comparative study of biological characteristics and transcriptome profiles of mesenchymal stem cells from different canine tissues. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, 2019.

ZHANG, C. et al. Multiple administrations of human marrow stromal cells through cerebrospinal fluid prolong survival in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. **Cytotherapy**, v. 11, n. 3, p. 299–306, jan. 2009.

ZHANG, H. LIAN et al. Comparisons of the therapeutic effects of three different routes of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in cerebral ischemic rats. **Brain Research**, v. 1680, p. 143–154, 2018.

ZHANG, J. et al. Human bone marrow stromal cell treatment improves neurological functional recovery in EAE mice. **Experimental Neurology**, v. 195, n. 1, p. 16–26, 2005.

ZUK P.A., ZHU M., MIZUNO H., HUANG J., ET AL. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. **Tissue Engineering**, v. 7, n. 2, p. 211–228, 2001.