

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA– UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DO EMPREGO INTRA-ARTICULAR DE
SECRETOMAS DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS
ALÓGENAS EM CÃES SUBMETIDOS À OSTEOTOMIA DE
NIVELAMENTO DO PLATÔ TIBIAL**

**Alefe Luiz Caliani Carrera
Médico Veterinário**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA– UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DO EMPREGO INTRA-ARTICULAR DE
SECRETOMAS DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS
ALÓGENAS EM CÃES SUBMETIDOS À OSTEOTOMIA DE
NIVELAMENTO DO PLATÔ TIBIAL**

Discente: Aiefe Luiz Caliani Carrera

Orientador: Prof. Associado Bruno Watanabe Minto

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Veterinárias.**

C314a

Carrera, Alefe Luiz Caliani

Análise do emprego intra-articular de secretomas de células tronco mesenquimais alógenas em cães submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial / Alefe Luiz Caliani Carrera. -- Jaboticabal, 2025

66 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Bruno Watanabe Minto

1. Acelerometria. 2. Cirurgia veterinária. 3. Ligamento cruzado cranial. 4.
Osteoartrite. 5. Tratamento complementar. I. Título.

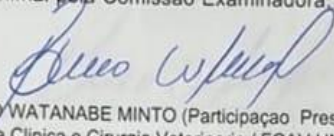
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

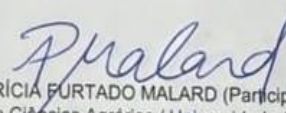
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ANÁLISE DO EMPREGO INTRA-ARTICULAR DE SECRETOMAS DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS EM CÃES SUBMETIDOS À OSTEOTOMIA DE NIVELAMENTO DO PLATÔ TIBIAL

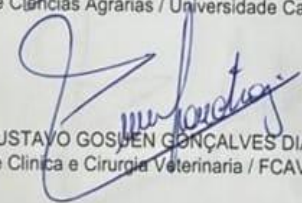
AUTOR: ALEFE LUIZ CALIANI CARRERA

ORIENTADOR: BRUNO WATANABE MINTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias,
área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. BRUNO WATANABE MINTO (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal


Prof. Dra. PATRÍCIA FURTADO MALARD (Participação Presencial)
Departamento de Ciências Agrárias / Universidade Católica de Brasília (UCB) - Brasília/DF


Prof. Dr. LUÍS GUSTAVO GOSHEN GONÇALVES DIAS (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

O autor Alefe Luiz Caliani Carrera, nascido em 1998 na cidade de Astorga, Paraná, Brasil, formou-se em medicina veterinária pela Universidade Cesumar (UniCesumar), campus de Maringá, Paraná no ano de 2020 e, no ano subsequente, iniciou no programa de residência multiprofissional em medicina veterinária, área de concentração de cirurgia de pequenos animais, na Universidade Federal do Paraná, campus Palotina, findando o programa no ano de 2023. Neste mesmo ano, iniciou os trabalhos no mestrado acadêmico no programa de pós-graduação em ciências veterinárias, da Faculdade de ciências agrárias e veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, com prazo para findar-se no primeiro bimestre de 2025.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo), a qual foi responsável pela concessão da bolsa de mestrado do acadêmico Alefe Luiz Caliani Carrera, por meio do processo número 2022/14243-1.

SUMÁRIO

	Página
APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Insuficiência do ligamento cruzado cranial canina.....	3
2.2 Osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO).....	4
2.3 Vesículas extracelulares de células-tronco mesenquimais.....	5
3. MATERIAIS E MÉTODO.....	8
3.1 Desenvolvimento e delineamento experimental.....	8
3.2 Modelo animal.....	9
3.3 Procedimento cirúrgico e pós-operatório.....	9
3.4 Tratamento intra-articular.....	10
3.5 Obtenção das vesículas extracelulares de células-tronco mesenquimais caninas.....	11
3.6 Modelos de avaliação clínica e imagenológica.....	13
4. RESULTADOS.....	18
5. DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÃO.....	45
7. REFERÊNCIAS.....	46

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Análise do emprego intra-articular de secretomas de células tronco mesenquimais alógenas em cães submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial", protocolo nº 9138/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 14 de dezembro de 2022.

Vigência do Projeto	01/03/2023 a 28/02/2025
Espécie / Linhagem	Cães domésticos (<i>Canis Lupus familiaris</i>)
Nº de animais	20
Peso / Idade	De 10 a 45kg / 1 a 7 anos de idade
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Rotina do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" – UNESP / Jaboticabal

Jaboticabal, 14 de dezembro de 2022.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

ANÁLISE DO EMPREGO INTRA-ARTICULAR DE SECRETOMAS DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS ALÓGENAS EM CÃES SUBMETIDOS À OSTEOTOMIA DE NIVELAMENTO DO PLATÔ TIBIAL

RESUMO – A osteoartrite canina presente após a osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) em pacientes com insuficiência do ligamento cruzado cranial (ILCC) é progressiva e alvo de tratamentos adjuvantes. Portanto, o presente estudo objetivou a avaliação da recuperação em curto prazo e progressão da osteoartrite pós-operatória em pacientes submetidos à TPLO e tratados com secretoma de células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CTMTA) alógenas pela via intra-articular. Foram incluídos 20 animais oriundos de rotina clínica, divididos em dois grupos (n = 10 cada): controle (GC), o qual recebeu placebo, e tratamento (GT), o qual recebeu injeção intra-articular contendo 200-250µg de proteínas e produtos de secreção de CTMTAs, ao final do procedimento cirúrgico. Ambos os grupos foram avaliados quanto ao grau de claudicação, dor articular, acelerometria, escala de osteoartrite radiográfica e ultrassonografia articular para efusão e características da cartilagem articular por até 150 dias após a cirurgia. Como resultado, 19 pacientes seguiram com todas as análises propostas. GT apresentou superioridade em relação a GC ($p < 0,05$) na redução da claudicação e da dor articular a partir de 15 dias pós-cirúrgicos, embora não tenha sido observada diferença estatística quando considerado os parâmetros de acelerometria ($p > 0,05$). Para GC, houve progressão da osteoartrite radiográfica, enquanto GT foi capaz de reduzi-la em relação ao pré-cirúrgico ($p < 0,05$) a partir de 15 dias pós-operatórios, havendo diferença significativa entre os grupos nesse quesito ($p < 0,05$). GT também apresentou resultados mais favoráveis em relação a GC ($p < 0,05$) nos parâmetros de efusão e cartilagem à ultrassonografia articular, principalmente após 30 dias de cirurgia. Aos 30 dias após a cirurgia, verificou-se consolidação radiográfica superior em GT em relação a GC ($p < 0,05$). Conclui-se que o secretoma de CTMTA é capaz de reduzir a inflamação articular e acelerar a recuperação clínica de pacientes submetidos à TPLO.

Palavras-chave: Acelerometria, cirurgia veterinária, ligamento cruzado cranial, osteoartrite, tratamento complementar

ANALYSIS OF INTRA-ARTICULAR USE OF ALLOGENIC MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOMES IN DOGS UNDERGOING TIBIAL PLATEAU LEVELING OSTEOTOMY

ABSTRACT - Canine osteoarthritis observed after tibial plateau leveling osteotomy (TPLO) in patients with cranial cruciate ligament insufficiency (CCLI) is progressive and a target for adjuvant treatments. Therefore, the present study aimed to evaluate the early clinical recovery and progression of postoperative osteoarthritis in patients undergoing TPLO and treated with intra-articular allogeneic secretome derived from adipose tissue mesenchymal stem cells (AT-MSCs). A total of 20 dogs from routine clinical cases were included, divided into two groups ($n = 10$ each): the control group (GC), which received a placebo, and the treatment group (GT), which received an intra-articular injection containing 200–250 μg of proteins and secretion products from AT-MSCs at the end of the surgical procedure. Both groups were evaluated for lameness, joint pain, accelerometry, radiographic osteoarthritis scale, and articular ultrasonography parameters, including effusion and cartilage characteristics, for up to 120–150 days post-surgery. As a result, 19 completed all proposed analyses. GT showed superiority over GC ($p < 0.05$) in reducing lameness and joint pain from 15 days postoperatively, although no differences were observed in accelerometry parameters ($p > 0.05$). In GC, radiographic osteoarthritis progressed, while GT demonstrated a reduction compared to preoperative levels ($p < 0.05$) as early as 15 days post-surgery, with a significant difference between groups ($p < 0.05$). GT also showed more favorable results compared to GC ($p < 0.05$) in ultrasonographic parameters of effusion and cartilage, particularly after 30 days post-surgery. Additionally, at 30 days post-surgery, radiographic consolidation was significantly superior in GT compared to GC ($p < 0.05$). It is concluded that AT-MSC secretome is capable of reducing joint inflammation and accelerating clinical recovery in patients undergoing TPLO.

Keywords: Accelerometry, veterinary surgery, cranial cruciate ligament, osteoarthritis, complementary treatment

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Coeficiente de correlação de Spearman, seguido do valor de p em intervalo de confiança de 95%, para as variáveis analisadas em pacientes com insuficiência do ligamento cruzado cranial e submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial.....21
- Tabela 2.** Valores absolutos (n) de avaliação clínica de grau de claudicação em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....22
- Tabela 3.** Valores de medianas e percentis 25 e 75% das escalas de claudicação em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....23
- Tabela 4.** Valores absolutos (n) de avaliação clínica de dor articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....24
- Tabela 5.** Valores de medianas e percentis 25 e 75% das escalas de dor articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....24
- Tabela 6.** Nível de atividade em média de tempo (min), avaliado por acelerometria, em um período de 24 horas, em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....25
- Tabela 7.** Comparação das médias (min) do nível de atividade, avaliado por acelerometria, em um período de 24 horas, em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....26
- Tabela 8.** Avaliação do grau de ossificação radiográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, com base nas escalas de 5 e de 10 pontos (Kieves et al., 2015), aos 30 dias pós-cirúrgicos.....28
- Tabela 9.** Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para evolução da osteoartrite radiográfica em escala de seis pontos (Moore, Weeren e Paek, 2019) em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-

tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.....	29
Tabela 10. Valores absolutos (n) de avaliação ultrassonográfica de efusão articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....	31
Tabela 11. Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para intensidade de efusão articular ultrassonográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.....	31
Tabela 12. Valores absolutos (n) de avaliação ultrassonográfica de cartilagem articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.....	32
Tabela 13. Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para característica de cartilagem articular à ultrassonografia em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.....	33
Tabela 14. Coeficiente de correlação de Spearman, seguido do valor de p em intervalo de confiança de 95%, para as variáveis de escala de osteoartrite radiográfica, efusão articular ultrassonográfica e doença articular degenerativa macroscópica em pacientes com insuficiência do ligamento cruzado cranial e submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial.....	34

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem transcirúrgica de paciente submetido à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Após a execução da técnica de osteotomia de nivelamento do platô tibial e conclusão da artrotomia, fazia-se a administração intra-articular do composto referente a cada grupo experimental com auxílio de seringa de 3mL e agulha hipodérmica 25x0,8mm.....11
- Figura 2.** Avaliação clínica por acelerometria de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. A: Acelerômetro *ActiGraph® wGT3X-BT*. B: Paciente portando o acelerômetro fixado ao pescoço (seta amarela).....14
- Figura 3.** Software de avaliação clínica por acelerometria *ActiLife 6 software (ActiGraph®)*, utilizado para análise de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Na coluna à direita, observa-se a contagem de vetores resultantes necessários como ponto de corte para a classificação da atividade em leve, moderada ou vigorosa.....15
- Figura 4.** Avaliação ultrassonográfica de efusão articular (seta) em joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Vista longitudinal no acesso crânio-medial de côndilo medial femoral, região infrapatelar e superfície articular tibial. A: Efusão leve. B: Efusão moderada. C: Efusão severa.....16
- Figura 5.** Avaliação ultrassonográfica de cartilagem articular em joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Vista longitudinal no acesso medial de côndilo femoral, menisco medial e superfície articular tibial. A: Cartilagem articular normoespessa. B: Cartilagem articular afilada. C: Cartilagem articular espessada.....17
- Figura 6.** Avaliação transcirúrgica de joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. A: Mini-artrotomia medial com distração articular, revelando lesão de menisco medial com eversão de polo caudal (seta). B: Polo caudal do menisco medial após meniscectomia. C: Aspecto intra-articular após a meniscectomia.....19

Figura 7. Representação da avaliação da progressão da osteoartrite radiográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células tronco mesenquimais caninas alógenas, com projeções médio-laterais de tíbia nos momentos pré-operatório (A e D) e pós-operatório de 60 dias (B e E) e 90 dias (C e F). Note que o grupo controle apresentou progressão da osteoartrite ao longo das avaliações, enquanto o grupo tratado foi capaz de mantê-la estável.....29

1. INTRODUÇÃO

A insuficiência do ligamento cruzado cranial (ILCC) em cães merece destaque quanto à sua casuística, sendo uma das principais condições causadoras de osteoartrose no joelho (Malek et al., 2020; Spinella, Arcamone e Valentini, 2021; Villatoro et al., 2023). Mesmo que seja uma afecção de comum, pode culminar com sequelas graves referentes à lesão articular degenerativa crônica (Glyn-Jones et al., 2015; Kuyinu et al., 2016), bem como levar à claudicação ou alterações de apoio em pacientes acometidos (Ballagas et al., 2016). Tendo em vista o desbalanço mecânico causada no ambiente articular, é recomendado o tratamento cirúrgico para a grande maioria dos pacientes.

A osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) é a técnica mais utilizada para tratamento da ILCC em todo o mundo, e objetiva promover estabilização dinâmica da articulação por meio do nivelamento do platô tibial (Slocum e Slocum, 1993). Apesar de ser descrita há décadas, da ampla disseminação e de representar uma das técnicas mais estudadas atualmente, não pode ser considerada ideal ou perfeita. Alguns pacientes ainda apresentam resultados subótimos, principalmente considerando-se a recuperação clínica limitada em curto e médio prazos, podendo estender-se a mais de 30 semanas para retorno integral à função do membro acometido (Heidorn et al., 2018), bem como no quesito de progressão da osteoartrite (Shimada et al., 2020a) como consequência da instabilidade articular residual pós-cirúrgica, com progressão da inflamação ao longo do tempo (Tinga et al., 2020). Nesse cenário, potenciais adjuvantes para mitigar os efeitos inflamatórios são desejáveis.

Portanto, o uso de vesículas extracelulares e demais produtos celulares derivados de células-tronco mesenquimais originárias de tecido adiposo (CTMTA) caninas, também denominado secretoma, pode figurar como um potencial agente adjuvante, tendo em vista os comprovados efeitos prévios anti-inflamatório e antioxidante (Gowen et al., 2020; Tieu et al., 2020). Embora estudos anteriores tenham elencado resultados positivos do secretoma em pacientes veterinários (Shafieian et al., 2017), pesquisas direcionadas a modelos clínicos de osteoartrite em

cães são escassas. Considerando a necessidade de buscar melhores resultados pós-operatórios em pacientes submetidos à TPLO, bem como os efeitos anti-inflamatórios articulares previamente comprovados das vesículas extracelulares, a análise dos parâmetros clínicos e imagenológicos representam um passo inicial de avaliar o potencial desejado dos secretomas empregados de forma intra-articular, no intuito de reduzir a inflamação, antecipar o retorno à função e acelerar o processo de regeneração articular na cicatrização cirúrgica, os quais foram os objetivos deste estudo. Como hipótese, acredita-se que o uso intra-articular do secretoma seja capaz de promover recuperação clínica precoce dos pacientes no curto prazo em decorrência da redução da inflamação articular.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Insuficiência do ligamento cruzado cranial canina

O ligamento cruzado cranial possui grande importância biomecânica na estabilidade da articulação femorotibio Patelar, evitando o deslocamento cranial da tíbia em relação aos côndilos femorais, a hiperextensão articular e o excessivo movimento de rotação interna da tíbia em relação ao fêmur (Spinella, Arcamone e Valentini, 2021). A insuficiência deste componente pode ser causada por ruptura parcial ou total do componente ligamentar. Ainda, sinais clínicos de dor e claudicação poderão ser observados (Spinella, Arcamone e Valentini, 2021), os quais podem ser exacerbados em casos de lesões meniscais associadas à injúria ligamentar, em decorrência da progressão da inflamação articular e retardo do retorno à função (Franklin, Gilley e Palmer, 2010). A lesão completa do ligamento representa ainda maiores chances de injúria meniscal e danos articulares agudos graves (Laube e Kerstetter, 2020). Esse acometimento promove progressão acelerada da osteoartrite de forma clinicamente relevante, por meio da elevação dos biomarcadores de inflamação articular (Lindhorst et al., 2000).

A osteoartrite agrava os efeitos da inflamação articular, com efusão e migração de células inflamatórias, além de liberação de mais mediadores que geram dor e culminam com eventos em cascata que seguem para a cronicidade. Com a evolução do quadro, há formação de osteófitos, remodelação articular e degeneração de cartilagem e osso subcondral. Subsequente à inflamação, haverá aumento da vascularização de osso subcondral, por meio do qual chegarão as células inflamatórias e aumentará a reabsorção articular pela ação de osteoclastos. A ação das células inflamatórias culminará com a liberação de citocinas, interleucinas e demais mediadores inflamatórios, como MMP, TNF- α e IFN- γ por exemplo. A ação conjunta do mecanismo gera ação de ativação osteoblástica, hipertrofia e apoptose de condrócitos e deposição de fibras colágenas, culminando com alterações macroscópicas de erosão articular, esclerose óssea e fibrose periarticular (Bockstahler et al., 2009; Glyn-Jones et al., 2015; Kuyinu et al., 2016).

Dentre os marcadores séricos de lesão articular, a metaloproteinase (MMP) representa grande importância, visto ser responsável pela degradação do colágeno tipo II presente na cartilagem articular (Settle et al., 2010). Da mesma maneira, as diferentes interleucinas são eficazes na mensuração da inflamação femorotibio Patelar em casos de injúria de ligamento cruzado cranial (Malek et al., 2020), bem como a mensuração de proteína C reativa e amiloide A séricas é importante na evidência de inflamação articular pós-operatória, principalmente aquelas causadas pela infecção articular após a TPLO (Löfgvist, Kjelgaard-Hansen e Nielsen, 2018).

2.2. Osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO)

Em decorrência da limitação das demais técnicas desenvolvidas para a correção cirúrgica da ILCC, Slocum e Slocum (1993) determinaram que a inclinação do platô tibial era crucial na instabilidade articular após a lesão ligamentar e uma manipulação cirúrgica na região articular da tibia poderia promover uma estabilidade articular. Dessa forma, evidenciou-se que a angulação do platô tibial (*tibial plateau angle* – TPA) é diretamente proporcional ao deslocamento cranial da tibia em relação ao fêmur em casos de lesão ligamentar. Portanto, com o uso da TPLO, objetiva-se reduzir o TPA a fim de promover a estabilização dinâmica articular e reduzir a instabilidade, onde o novo ângulo deve ser mantido próximo a 5° (Slocum e Slocum, 1993; Nanda e Hans, 2019). Essa alteração é obtida por meio da osteotomia semicircular feita na tibia proximal, com centro de rotação na articulação femorotibio Patelar (Slocum; Slocum, 1993).

Essa técnica representa maior segurança à cartilagem articular, visto resultar em menor chances de dano pós-operatório (Jeong et al., 2021), além de promover o retorno da cinética articular à parâmetros semelhantes aos fisiológicos, bem como reduz a sobrecarga exercida sobre os meniscos (Schmutterer et al., 2022). A técnica possui chances baixas de complicações e mostra-se como uma das mais seguras para correção de lesão do ligamento cruzado cranial (Barnes et al., 2016). Ainda, permite que seja feita de forma concomitante a correção da lesão meniscal, o que é capaz de promover a aceleração da recuperação do paciente acometido por ILCC (Ritzo et al., 2014).

A recuperação pós-operatória de pacientes submetidos à TPLO é alvo de estudos e de grande interesse na medicina veterinária. Embora seja o método mais utilizado atualmente para correção da ILCC, possui limitações, como o tempo médio de recuperação completa de cães, que pode chegar a sete meses e meio, enquanto o retorno à função atlética, cerca de nove meses, podendo chegar até a um ano (Heidorn et al., 2018). Em decorrência da inflamação articular inicial pós-operatória, a força do membro afetado é significativamente reduzida nas primeiras oito semanas pós-operatórias (Ballagas et al., 2004). Quanto à sustentação de peso no membro acometido, este retorna ao apoio fisiológico em média após seis meses, em decorrência da inflamação articular. Ainda, a progressão da osteoartrite é mais acentuada em pacientes com ruptura completa do ligamento em relação aos com ruptura parcial (Shimada et al., 2020a). A taxa de evolução da osteoartrite nos primeiros 24 meses não diferiu de períodos maiores que esse, demonstrando que a taxa de evolução da degeneração articular não apresenta a mesma evolução após esse período, e que se desenvolve principalmente nos primeiros meses subsequentes à cirurgia (DeLuke et al., 2012). Mesmo que a melhora clínica do paciente seja notada, a progressão da osteoartrite pode ocorrer radiograficamente da mesma forma (Martini et al., 2017).

Além da inflamação articular asséptica, a preocupação em torno da técnica de TPLO se dá em decorrência da chance de infecção do sítio cirúrgico, representando grave risco à cicatrização e recuperação do paciente (Löfqvist, Kjelgaard-Hansen e Nielsen, 2018). E, também, em relação à dinâmica articular após o procedimento, poderá haver exacerbação da rotação interna e externa da tíbia, gerando sobrecarga nos ligamentos colaterais e aumentando as chances de progressão da osteoartrite (Shimada et al., 2020b), visto que a instabilidade articular é reduzida, porém não ao nível fisiológico, sendo esse um dos métodos de progressão da artropatia inflamatória (Tinga et al., 2020).

2.3. Vesículas extracelulares de células-tronco mesenquimais

Quando se trata de lesões cartilaginosas, a ausência de vascularização representa um importante atraso da sua cicatrização. Portanto, promotores de sua

cicatrização e, potencialmente, regeneração, são importantes. Nesse âmbito, as terapias alternativas para acelerar o processo de cicatrização se fazem necessárias e as CTMTA e suas vesículas extracelulares figuram entre as técnicas de elevado potencial para aplicação terapêutica (Velot et al., 2021).

Diversos resultados indicaram que o efeito desejado das células-tronco mesenquimais de tecido adiposo se referia à ação da secreção de vesículas extracelulares, na forma de exossomos e microvesículas, as quais carregam inúmeros sinalizadores e componentes genéticos, como RNA mensageiro (mRNA), micro-RNA (miRNA), proteínas e alguns lipídios. O efeito em conjunto dessas substâncias é capaz de promover angiogênese, apoptose, redução da inflamação e proliferação celular, por meio da expressão de fatores de crescimento e proteínas relacionadas a cada ação desejada (Gowen et al., 2020; Tieu et al., 2020). As vesículas extracelulares também são elegíveis como métodos de tratamento. Atuam potencializando o efeito gerado pelas CTMTAs, tornando-o mais direto e reduzindo os possíveis efeitos colaterais existentes (Diomaiuto et al., 2021). O uso das microvesículas na ortopedia veterinária é recente e ainda pouco explorado. Porém, em estudos iniciais, vem mostrando resultados promissores e eficazes, sendo poucos avanços relatados até o momento frente ao crescimento recente desse método terapêutico (Shafieian et al., 2017; Carrera et al., 2023).

Os secretomas podem ser administradas em cães de forma intra-articular após manipulação farmacêutica. Esse composto é administrado na articulação, demonstrando eficácia, segurança e ausência de efeitos colaterais (Mocchi et al., 2021). O uso dos secretomas de CTMTA mostra-se como uma eficaz e potencial terapia para casos de osteoartrite. Seus efeitos podem estar relacionados com a estimulação da multiplicação de condrócitos e estímulo de diferenciação das células-tronco articulares (Song et al., 2021). Seu uso apresenta resultados positivos na melhora dos sinais clínicos de pacientes acometidos por inflamações crônicas das articulações, reduzindo os níveis de dor clínica à quase metade em comparação ao grupo controle (Harman et al., 2016). Da mesma forma, as vesículas extracelulares mostraram-se eficientes na redução da inflamação articular em pacientes induzidos clinicamente à osteoartrite, principalmente quando utilizado de forma intra-articular (Bousnaki et al., 2020), método esse que demonstrou efeito de indução da

regeneração de condrócitos, redução da apoptose via proteínas FOX de classe O (FOXO) e estimulação da ação de macrófagos M2 na regulação da inflamação via aumento de IL-10 (Li et al., 2022).

A redução da inflamação articular se dá por meio dos mecanismos de diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias, redução da expressão de MMP, inibição da ativação de macrófagos e da liberação de óxido nítrico intra-articular, reduzindo assim o estresse oxidativo da articulação (Song et al., 2021). Seus efeitos ainda incluem: estímulo à proliferação e diferenciação de células progenitoras tendíneas (TSPC), redução de marcadores catabólicos e inflamatórios, aumento da proliferação de condrócitos por meio da estimulação genética de GIT1 e aumento de marcadores condrogênicos nas células precursoras de condrócitos (Cosenza et al., 2017; Chen et al., 2018; Liu et al., 2018; Yu et al., 2020). A aplicação das CTMTAs propriamente ditas de forma única intra-articular mostrou-se eficaz na redução da inflamação aguda em comparação aos anti-inflamatórios não-esteroides, representando uma modalidade terapêutica segura em cães (Taroni et al., 2017).

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1. Desenvolvimento e delineamento experimental

O presente estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário (HV) "Governador Laudo Natel", vinculado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) "Júlio de Mesquita Filho". Foram utilizados cães provenientes da rotina clínica do HV, atendidos sob demanda de seus tutores e diagnosticados com insuficiência do ligamento cruzado cranial esquerdo ou direito, os quais foram submetidos à cirurgia de osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas internacionais de bem-estar animal, com autorização prévia da Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, sob protocolo nº 9138/22 e de seus tutores, por meio da assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido.

Os pacientes de ambos os grupos experimentais formados foram agrupados em planilhas. Os dados mencionados como parâmetros clínicos, ultrassonográficos e radiográficos de avaliação pré e pós-operatória foram quantificados e compilados na planilha referente a cada paciente. Os dados qualitativos foram tratados de forma discursiva a fim de compará-los com a literatura disponível e os resultados esperados. A correlação de Spearman foi adotada para comparar variáveis dos pacientes incluídos no estudo. Os dados quantitativos e as variáveis dependentes foram tratados com moda, média e mediana, estabelecendo desvio padrão de cada parâmetro. Os dados de escala foram analisados de acordo com medianas e percentis 25 e 75%. Foi realizado o teste de Mann-Whitney para comparação das escalas em ambos os grupos, separadamente nos diferentes momentos. Para comparação dos momentos foi realizado o Teste de *Friedman Repeated Measures* e, quando significativo, foi realizado o Teste de Tukey para comparação das medianas. Para avaliação do tempo de consolidação entre os grupos foi realizado o Teste t de Student.

As análises de acelerometria foram performadas nos diferentes momentos dentro de cada grupo separadamente pela análise de medidas repetidas no tempo

(*One Way Repeated Measures*) e quando significativa, foi realizado o Teste de Tukey para comparação das médias. Também dentro de cada grupo separadamente foi comparado o tempo médio no nível de atividade em cada momento pela análise de variância (ANOVA) e quando houve diferença estatística significativa foi realizado o Teste de Tukey para comparação das médias. Em todas as análises descritas, adotou-se intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

3.2. Modelo animal

Um total de 20 cães foram incluídos no estudo, os quais foram atendidos na rotina clínica do HV, diagnosticados com insuficiência do ligamento cruzado cranial em membro pélvico esquerdo ou direito por meio de teste de gaveta articular, e encaminhados para tratamento cirúrgico por meio da TPLO. Não houve predileção racial. Os pacientes selecionados apresentaram entre um e sete anos de idade, sem alterações clínicas ou hematológicas relacionadas a distúrbios sistêmicos graves e sem doença articular degenerativa (DAD) nas demais articulações dos membros pélvicos, padronizados em pesos de 10 a 45 kg. Tais pacientes foram submetidos, previamente ao procedimento cirúrgico, à hemograma completo e análise bioquímica para dosagem sérica de ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina-aminotransferase, albumina e proteínas totais. Os critérios de exclusão foram: distúrbios endócrinos crônicos, fraturas prévias em membros pélvicos, DAD nas demais articulações de membros pélvicos, presença de lesões graves em tecidos moles e amputações prévias de membros.

3.3. Procedimento cirúrgico e pós-operatório

Os pacientes foram avaliados radiograficamente previamente à cirurgia, de forma a estabelecer a avaliação do ângulo de platô tibial (TPA), onde optou-se por incluir os pacientes que possuíam ângulo igual ou superior a 15°. O planejamento cirúrgico foi feito utilizando o *software vPOP Pro (VETSOS Education Limited)*. Após a mensuração do TPA, escolheu-se a lâmina semicircular de corte, variando dos diâmetros de 10 a 30mm de acordo com o porte do paciente e mensuração óssea,

bem como a determinação da rotação do fragmento tibial, o qual foi calculado em milímetros de forma a manter o TPA próximo a 5°. A mensuração e planejamento dos implantes a serem utilizados foi feita através do mesmo *software*, onde o diâmetro dos sistemas das placas e parafusos bloqueados foi ajustado ao porte dos animais a tratados.

O procedimento iniciou-se com a tricotomia do membro pélvico acometido. Então, seguia-se para acesso venoso via veia cefálica e instituição do protocolo anestésico. Assim, continuava-se para o posicionamento cirúrgico do paciente, no decúbito dorsal com o membro afetado estendido caudalmente, a fim de permitir o acesso medial à articulação femorotibiopatelar. A técnica de TPLO foi realizada de acordo com o proposto por Slocum e Slocum (1993). Ao fim da técnica, seguia-se para artrotomia medial por meio de incisão parapatelar a fim de verificar a presença ou ausência de lesão em meniscos, bem como evidenciar macroscopicamente o nível de DAD. Quando identificada lesão de menisco, esta foi classificada e, então, se necessário, era feita a meniscectomia parcial ou total. Os implantes utilizados para a fixação do fragmento foram confeccionados em aço cirúrgico ou titânio. No pós-cirúrgico, os pacientes receberam tratamento analgésico (metadona 0,2mg/kg IM em dose única e cloridrato de tramadol 4mg/kg a cada 8 horas) e anti-inflamatório não esteroide (carprofeno 2,2mg/kg a cada 12 horas) durante sete dias, além de antibiótico (amoxicilina com clavulanato de potássio 22mg/kg a cada 12 horas) durante 10 dias e gabapentina (10mg/kg a cada 12 horas) durante 60 dias. As avaliações nas primeiras 48 horas de pós-cirúrgico foram feitas por meio de gravação de vídeo do paciente, feito pelos tutores, em sua casa, com duração mínima de 20 segundos, durante caminhada. As demais avaliações foram feitas por meio de retornos presenciais.

3.4. Tratamento intra-articular

Foram formados dois grupos experimentais, com 10 animais cada. O primeiro grupo, dito grupo tratamento (GT), recebeu injeção intra-articular com solução estéril contendo secretoma com proteínas extracelulares de células-tronco mesenquimais de tecido adiposo alógenas caninas. O segundo grupo, dito controle (GC), recebeu injeção intra-articular de solução fisiológica estéril. O fornecimento do produto foi feito

somente no transoperatório, após a conclusão da artrotomia (Figura 1). O GC contou com amostras líquidas contendo de 200 a 250 μ g de proteínas produzidas por células-tronco mesenquimais de tecido adiposo alógenas, diluído em solução de ringer com lactato, formando 0,7mL. O grupo controle recebeu placebo, contendo o volume de 0,7mL de solução de ringer com lactato puro.



Figura 1. Imagem transcirúrgica de paciente submetido à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Após a execução da técnica de osteotomia de nivelamento do platô tibial e conclusão da artrotomia, fazia-se a administração intra-articular do composto referente a cada grupo experimental com auxílio de seringa de 3mL e agulha hipodérmica 25x0,8mm.

Fonte: O autor (2024)

3.5. Obtenção das vesículas extracelulares de células-tronco mesenquimais caninas

As CTMTAs caninas foram provenientes da empresa BioCell Ltda., a qual dispõe de estoque comercial destas conservadas em nitrogênio líquido. Tais células, em seu processo produtivo, foram isoladas de tecido adiposo de cães saudáveis. O

método de obtenção das células deu-se através da lavagem da amostra tecidual quatro vezes com solução tampão fosfato salino DMPBS e fragmentação da amostra, a qual foi submetida à digestão enzimática em solução de colagenase e hialuronidase durante 30 minutos à 38,5°C. Na sequência, as células estromais obtidas foram acondicionadas em garrafas de cultivo com meio TCM 199, à 38,5°C e atmosfera controlada à 5% de CO₂ durante 7 dias. Logo após, as células foram divididas em maior número de garrafas e cultivadas até atingirem a confluência de 90%. Nesse momento, passaram pelo processo de congelamento e posterior cultivo celular em meio específico, além de terem duas amostras destinadas para garantia de qualidade, sendo uma para caracterização molecular através de marcadores para células-tronco mesenquimais, e a outra encaminhada à diferenciação celular em osteoblastos, condrócitos e adipócitos para fins de caracterização, de acordo com as normas da Sociedade Internacional de Terapia Celular. O cultivo celular também foi realizado na referida empresa, procedendo-se o descongelamento em banho maria a 37°C e colocação das mesmas em meio de cultura contendo 12mL de meio DMEM, sem vermelho de fenol e sem soro fetal bovino, em garrafas de 75cm³, contendo cerca de 300 mil células, onde foi realizada a troca do meio de cultura a cada 48 horas.

Posteriormente, o composto contendo meio de cultivo + CTMTA foi dividido em tubos cônicos de 50mL para centrifugação a 2000g durante 15 minutos para remoção de debris celulares. Sequencialmente, uma nova centrifugação é feita a 17000g por 40 min, a fim de remover corpos apoptóticos. O sobrenadante foi recuperado e filtrado com filtro de seringa 0,22µm para remoção de partículas maiores. Então, coletou-se 15mL do resultado obtido e colocou-se em dispositivo de ultrafiltração 100 kDA, onde foram novamente centrifugadas a 4000g durante 15 minutos, gerando assim um meio concentrado de secretoma. Esse conteúdo foi aspirado com micropipeta p200 e transferido para um microtubo de 1,5mL, totalizando cerca de 250µL do composto concentrado. Ato contínuo, as amostras seguiram para a quantificação proteica pelo método de Bradford (1976), sendo coletadas amostras de 10µL de cada lote manipulado e acondicionadas em tubos de 200µL. Os resultados foram fornecidos em planilha do Excel para cálculo da curva padrão e elaboração da concentração proteica em µg/mL do concentrado formado, permitindo a confecção da amostra contendo 200-250µg em 0,7mL de solução de ringer com lactato. As alíquotas individuais foram

armazenadas e divididas em três palhetas de 0,25mL de volume, conservadas em nitrogênio líquido após a curva de congelamento. Para uso intra-articular, as três unidades de palhetas foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 20 segundos.

3.6. Modelos de avaliação clínica e imagenológica

Os animais foram submetidos, pré e pós-cirúrgico, à avaliação de marcha, suporte de carga no membro, presença de sinal de lesão de meniscos na extensão e flexão articular e dor na palpação de articulação femorotibiopatelar. Também foi feita avaliação radiográfica a fim de avaliar intensidade da lesão articular, e ultrassonografia articular, a fim de avaliar a ocorrência de lesão em meniscos medial e lateral. Ademais, adicionou-se a avaliação objetiva da atividade dos pacientes utilizando-se da acelerometria em um período de 24 horas durante todo o acompanhamento pré e pós-cirúrgico. As avaliações pós-cirúrgicas serão feitas nos momentos pós-operatórios: (1) 24 horas; (2) 48 horas; (3) de 10 a 20 dias; (4) 30 a 40 dias; (5) 60 a 70 dias; (6) 90 a 100 dias; e (7) 120 a 150 dias.

A função do membro foi interpretada em todos os momentos do pré e pós-cirúrgico por um único avaliador de acordo com a escala de claudicação de cinco pontos, estabelecida e validada por Cook et al. (1999), atribuindo a nota de 0 a 4 de acordo com o apoio do membro acometido, sendo: 0 para ausência de claudicação clínica visual; 1 para claudicação leve durante a sustentação do peso; 2 para claudicação moderada durante a sustentação do peso; 3 para claudicação severa durante o apoio de peso; 4 para membro com impotência funcional total, sem apoio.

Já a função objetiva do membro foi avaliada por meio de acelerômetro *ActiGraph® wGT3X-BT*, o qual foi fixado à região ventral do pescoço dos animais acometidos utilizando-se uma coleira, mantendo-o estável (Figura 2). Os dados foram coletados durante 24 horas pelo dispositivo, o qual utiliza-se da contabilização de vetores, que foram descarregados em um computador e analisados através do *ActiLife 6 software (ActiGraph®)* (Figura 3), onde, por meio de contagem de vetores em três diferentes direções, forneceu análises referentes ao nível de atividade dos animais com base nos vetores resultantes dentro do período de análise. O nível de atividade

foi considerado como sedentário, moderado e vigoroso (Schuster et al., 2023). Essas avaliações foram feitas em todos os momentos do período pré e pós-operatório.



Figura 2. Avaliação clínica por acelerometria de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. A: Acelerômetro *ActiGraph® wGT3X-BT*. B: Paciente portando o acelerômetro fixado ao pescoço (seta amarela).
Fonte: (A) Site oficial *ActiGraph®* (2024) e (B) O autor (2024).

ActiLife v6.15.0 - No Devices Connected

File Edit Tools Help

Devices Wear Time Validation Scoring Sleep Batch Sleep PLM Graphing NHANES GPS Feature Extraction CentrePoint Data Vault

Algorithms

- Energy Expenditure (Freeedson Combination (1998))
- METs (Freeedson Adult (1998))
- Cut Points and MVPA (Dog)
- Bouts
- Sedentary Analysis
- HREE

Filters (All-Inclusive)

- Exclude Non-Wear Times from Analysis
- Use Subject Log Diaries

Global Date and Time Filters

Name	Date	Start Time	Stop Time
Add New Date/Time Filter			

Calculate

Files loaded: 0

Data Set	Subject Name	Serial Number	Details	Validated Data?	Log Diary	Worn on Wrist?	Time in Sedentário	Time in Moderado	Time in Vigoroso	% in Sedentário	% in Moderado	% in Vigoroso

Cut Point Editor

Edit and Select Cut Point Sets

Set Name	Delete
Mattocks Children (2007)	N/A
Evanson Children (2008)	N/A
Pale Preschool (2008)	N/A
Trost Toddler (2011)	N/A
Troiano Adult (2008)	N/A
Pulford Children (2011)	N/A
Butte Preschoolers VM (2013)	N/A
Butte Preschoolers (2013)	N/A
Nero Parkinson's Disease VM (2015)	N/A
Nero Parkinson's Disease (2015)	N/A
Johansson Preschoolers VM (2014)	N/A
Johansson Preschoolers (2014)	N/A
Keadle Women's Health VM (2014)	N/A
Keadle Women's Health (2014)	N/A
Dog	Delete

Properties

Set Name: Dog

Number of Cut Points: 3

Cut Point	Min	Max
Sedentário	0	1351
Moderado	1352	5695
Vigoroso	5696	and above

Cut Points based on Vector Magnitude

MVPA Minimum: Moderado (1352 counts)

Counts are based on 60 second epochs

Copy into New Save and Use Export

Where did we get our defaults?

Figura 3. Software de avaliação clínica por acelerometria *ActiLife 6 software (ActiGraph®)*, utilizado para análise de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Na coluna à direita, observa-se a contagem de vetores resultantes necessários como ponto de corte para a classificação da atividade em leve, moderada ou vigorosa.
Fonte: O autor (2024)

O exame ortopédico foi realizado em conformidade com o proposto e validado por Jeong et al. (2020), no período pré-operatório e nos momentos (3) a (7) do pós-cirúrgico. Caracterizou-se a presença ou ausência de clique meniscal palpável e audível, e graduou-se a dor articular durante a extensão e flexão do membro, bem como com a pressão digital nas superfícies lateral e medial da articulação femorotibiopatelar, recebendo cinco pontos, sendo: 0 ausência de sensibilidade dolorosa; 1 para sensibilidade dolorosa leve, com tração do membro contra ao estímulo feito; 2 para sensibilidade dolorosa moderada, com tração do membro e vocalização; 3 para sensibilidade dolorosa severa, com tração do membro, vocalização e tentativa de mordedura; 4 para dor severa sem permissão de toque à articulação.

A avaliação radiográfica foi feita nos momentos pré-operatório e (3) a (7) do pós-cirúrgico por um avaliador da área de diagnóstico por imagem, para classificação da osteoartrite em escala de seis pontos proposta e validada por Moore, Weeren e Paek (2019) para a articulação do joelho, sendo: 0 para ausência de efusão articular ou osteofitose; 1 para osteoartrite aguda inicial, com efusão articular sem presença de osteófitos; 2 para doença articular leve, com osteofitose patelar e nas bordas do sulco patelar da tróclea femoral; 3 para doença articular moderada, com pequenos osteófitos em patela, bordas do sulco patelar, nos côndilos femorais, fabela, margens articulares do platô tibial e cabeça da fíbula; 4 para doença articular moderada à severa, com osteófitos médios a grandes na patela, margens do sulco patelar, côndilos femorais, fabela, margens articulares do platô tibial e cabeça da fíbula, além de moderada esclerose subcondral; 5 para doença articular severa, com osteófitos grandes na patela, margens do sulco patelar, côndilos femorais, fabela, margens articulares do platô tibial e cabeça da fíbula, no interior da incisura intercondilar, além de moderada calcificação e esclerose subcondral. Ademais, estabeleceu-se o tempo necessário à completa ossificação e graduou-se a consolidação óssea aos 30 dias

pós-operatórios de acordo com escala de 10 e 5 pontos previamente estabelecidas (Kieves et al., 2015).

A avaliação ultrassonográfica da articulação femorotibiopatelar foi realizada nos momentos pré-operatório e (3) a (7) do pós-cirúrgico por profissional da área de diagnóstico por imagem com experiência na execução do referido exame, de acordo com o proposto e validado por Mahn et al. (2005) e Arnault et al. (2009), com avaliação dos aspectos cranial, médio e caudal da articulação femorotibiopatelar e dos meniscos medial e lateral, utilizando os ligamentos colaterais e patelar como pontos de referência para definição das porções nomeadas. As avaliações pré-cirúrgicas foram desenvolvidas quanto a presença ou ausência de lesão detectável nas três regiões meniscais denominadas, bem como com a visibilização da ruptura do ligamento cruzado cranial. Ainda, em todos os momentos de análise, avaliou-se a presença ou ausência de efusão articular no recesso entre côndilo femoral e região infrapatelar nos aspectos medial e lateral da articulação (Figura 4), bem como a característica da cartilagem articular em normal, afilada ou espessada, avaliada nas regiões de contato do côndilo femoral com o menisco medial (Figura 5) (Ramírez-Flores et al., 2017).



Figura 4. Avaliação ultrassonográfica de efusão articular (seta) em joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Vista longitudinal no acesso crânio-medial de côndilo medial femoral, região infrapatelar e superfície articular tibial. A: Efusão leve. B: Efusão moderada. C: Efusão severa.

Fonte: Serviço de diagnóstico por imagem, Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, FCAV UNESP (2024).

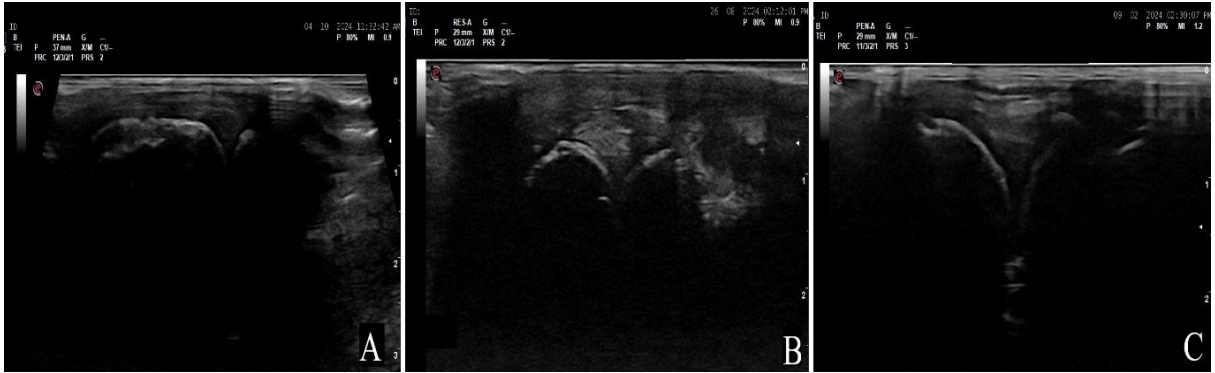


Figura 5. Avaliação ultrassonográfica de cartilagem articular em joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. Vista longitudinal no acesso medial de côndilo femoral, menisco medial e superfície articular tibial. A: Cartilagem articular normoespessa. B: Cartilagem articular afilada. C: Cartilagem articular espessada.

Fonte: Serviço de diagnóstico por imagem, Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, FCAV UNESP (2024).

4. RESULTADOS

Como resultado da metodologia empregada nessa pesquisa, um total de 20 cães foram incluídos no estudo. Entretanto, antes mesmo da realização do procedimento cirúrgico, um paciente foi excluído do quadro de avaliações por desejo de seu tutor legal. Portanto, um total de 19 pacientes somaram-se para todas as avaliações propostas. O GC representou a contagem total de nove integrantes, sendo a maioria sem raça definida ($n = 4$, 44,44%), seguido por labrador ($n = 2$, 22,22%), cane corso, boxer e american bully (cada um com $n = 1$, 11,11%), apresentando média de idade de $5,14 \pm 1,97$ anos e peso vivo de $26,42 \pm 8,8$ Kg. Já o GT somou 10 pacientes, em sua maioria também sem raça definida ($n = 5$, 50%) e sequencialmente por buldogue inglês, Shih-tzu, Shar-pei, American pit bull terrier e pastor belga (cada um com $n = 1$, 10%), com média de idades em $6,50 \pm 3,6$ anos e peso vivo de $23,53 \pm 7,73$.

Em relação ao atendimento pré-cirúrgico, o tempo médio de evolução dos sinais clínicos até o atendimento foi de $44,89 \pm 48,11$ dias para o GC e de $35,70 \pm 43,42$ dias para o GT. Já o TPA mensurado para a conduta cirúrgica foi de $28,83^\circ \pm 4,91^\circ$ para o GC e de $26,42^\circ \pm 3,45^\circ$ para o GT. O tempo médio entre o atendimento inicial e o procedimento cirúrgico foi de, aproximadamente, 20 dias ($18,44 \pm 13,56$ para GC e $21,60 \pm 13,03$ para GT). Com relação ao procedimento cirúrgico, o tempo médio observado foi de $139,78 \pm 36,19$ minutos para GC e $135,60 \pm 28,45$ minutos para GT, sendo a artrotomia responsável por $18,11 \pm 4,54$ em GC e $15,60 \pm 3,95$ em GT. Houve complicações transoperatórias em 3 pacientes (15,79%), sendo 2 de GC ($n = 2/9$, 22,22%) e 1 de GT ($n = 1/10$, 10%), as quais foram caracterizadas por lesão de ramo vascular da artéria tibial cranial ($n = 2$) e lesão iatrogênica parcial do ligamento patelar ($n = 1$).

Durante a cirurgia, por análise macroscópica após a artrotomia, verificou-se o nível de DAD e a integridade de meniscos. Para GC, houve predominância de pacientes com DAD leve ($n = 4$, 44,44%), seguido por ausente ($n = 3$, 33,33%) e moderada ($n = 2$, 22,22%), enquanto para GT houve predominância de DAD leve ($n = 6$, 60%), seguido por moderada ($n = 2$, 20%), severa e ausente ($n = 1$, 10% cada). Houve diferença entre os grupos com relação a presença de DAD macroscópica ($p =$

0,057). Foram identificadas lesão de menisco medial em 9 pacientes no total (47,37%), sendo 3 de GC (n = 3/9, 33,33%) e 6 de GT (n = 6/10, 60%), resultando em menissectomia parcial de todos eles (n = 9, 47,37%, Figura 6). As lesões meniscais identificadas foram: eversão de polo caudal (n = 7), lesão em alça de balde (n = 1) e fissura radial (n = 1). Como resultado cirúrgico, o TPA pós-operatório resultou em uma média de, aproximadamente, 5°, sendo $5,02^\circ \pm 3,47^\circ$ em GC e $4,83 \pm 1,91$ GT.

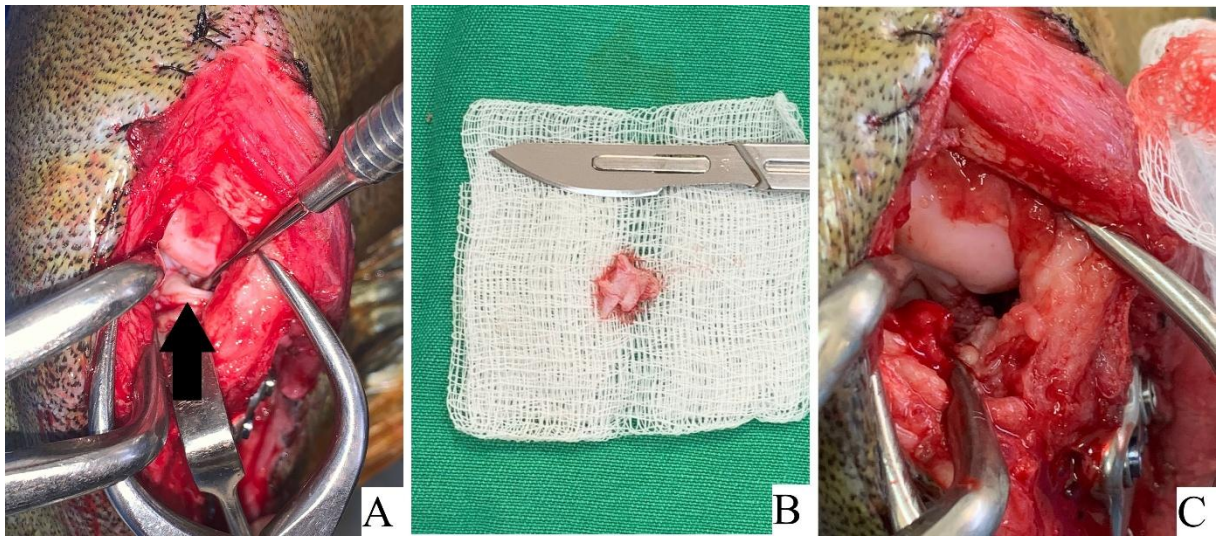


Figura 6. Avaliação transcirúrgica de joelho de pacientes submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial e tratados ou não com secretoma de células-tronco mesenquimais alógenas. A: Mini-artrotomia medial com distração articular, revelando lesão de menisco medial com eversão de polo caudal (seta). B: Polo caudal do menisco medial após menissectomia. C: Aspecto intra-articular após a menissectomia.

Fonte: O autor (2024).

Intercorrências não padronizadas foram verificadas em ambos os grupos durante o período de avaliações do estudo. Para GC, 2 pacientes apresentaram complicações cirúrgicas menores, sendo 1 com pivô-shift pós-cirúrgico, com resolução autolimitante após 90 dias de avaliações, e outro com uremia pós-operatória. Já para GT, 3 cães apresentaram complicações cirúrgicas menores, sendo elas infecção do sítio cirúrgico com osteomielite (n = 1), uremia (n = 1) e inflamação secundária à picada de inseto no mesmo membro operado (n = 1). Portanto, 1 paciente de GC e 2 pacientes de GT tiveram seus protocolos terapêuticos prolongados em relação aos demais pacientes, sendo todos submetidos ao prolongamento da terapia com gabapentina até o final do período de avaliações.

Todos os pacientes foram analisados em conjuntos para fins estatísticos, por meio da correlação de Spearman (Tabela 1), no intuito de verificar correlações entre variáveis direta ou indiretamente ligadas à afecção. Entretanto, significância numérica foi identificada apenas na dor articular no momento (3) com relação ao TPA e grau de claudicação no momento (3), embora tal correlação tenha sido positiva moderada. As demais variáveis não resultaram em correlações expressivas.

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Spearman, seguido do valor de p em intervalo de confiança de 95%, para as variáveis analisadas em pacientes com insuficiência do ligamento cruzado cranial e submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial.

Variáveis	Peso (Kg)	TPA ¹ (°)	DAD ² macroscópica	Claudicação pré-cirúrgica	Claudicaçã o em (3)	Lesão de menisco	Dor articular pré-cirúrgica	Dor articular em (3)	Tempo de evolução
Idade	0,336	0,340	0,188	0,441	0,097	0,340	0,137	-0,012	-0,024
	0,157	0,150	0,435	0,057	0,689	0,150	0,570	0,957	0,917
Peso (Kg)		0,422	0,259	-0,144	-0,399	0,116	-0,416	-0,412	0,267
		0,071	0,277	0,550	0,088	0,631	0,075	0,078	0,264
TPA¹ (°)			-0,207	0,208	0,445	-0,096	-0,230	0,543	-0,004
			0,389	0,389	0,056	0,689	0,338	0,016*	0,986
DAD² macroscópica				0,361	-0,198	-0,189	0,010	-0,273	0,188
				0,125	0,409	0,431	0,963	0,252	0,435
Claudicação pré-cirúrgica					0,389	0,144	-0,029	-0,114	-0,257
					0,097	0,550	0,900	0,636	0,284
Claudicação em (3)						0,293	0,321	0,529	-0,238
						0,219	0,176	0,020*	0,319
Lesão de menisco							0,222	-0,023	0,328
							0,353	0,922	0,166
Dor articular pré-cirúrgica								0,209	-0,263
								0,385	0,271
Dor articular em (3)									0,005
									0,980

¹ Ângulo do platô tibial; ² Doença articular degenerativa; * Significância estatística ($p < 0,05$).

Referente às análises clínicas de claudicação realizadas nos diferentes momentos de análises (Tabela 2), para o grupo controle, foi possível observar maioria absoluta apresentando claudicação severa (grau 3) pré-operatório e após 24 h do procedimento, apresentando redução estatisticamente relevante no grupo de claudicação apenas após 60 dias da cirurgia (Tabela 3), em relação ao período pré-cirúrgico. Já no grupo tratado, embora a maioria absoluta dos pacientes tenha apresentado impotência funcional (grau 4) e claudicação severa (grau 3) no pré-operatório e após 24 h da cirurgia, respectivamente, foi possível constatar que houve redução estatisticamente relevante do grau de claudicação com 15 dias após a cirurgia, em relação ao período pré-cirúrgico (Tabela 3).

Tabela 2. Valores absolutos (n) de avaliação clínica de grau de claudicação em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Ausência	Leve	Moderada	Severa	Impotência funcional
GRUPO CONTROLE					
Pré-operatório	0	2	1	6	0
(1)	0	0	3	4	2
(2)	0	3	3	3	0
(3)	1	6	1	0	1
(4)	5	2	1	1	0
(5)	8	1	0	0	0
(6)	9	0	0	0	0
(7)	9	0	0	0	0
GRUPO TRATADO					
Pré-operatório	0	1	3	3	3
(1)	0	1	2	2	5
(2)	0	2	3	4	1
(3)	4	2	1	3	0
(4)	5	3	0	2	0

(5)	8	2	0	0	0
(6)	10	0	0	0	0
(7)	9	1	0	0	0

Tabela 3. Valores de medianas e percentis 25 e 75% das escalas de claudicação em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Controle	Tratado	P
Pré-operatório			
	3,0 [1,8 – 3,0] ab	3,0 [2,0 – 4,0] a	0,486
(1)	3,0 [2,0 – 3,2] a	3,5 [2,0 – 4,0] a	0,640
(2)	2,0 [1,0 – 3,0] ab	2,5 [2,0 – 3,0] ab	0,357
(3)	1,0 [1,0 – 1,2] abc	1,0 [0,0 – 3,0] bc	0,797
(4)	0,0 [0,0 – 1,2] bc	0,5 [0,0 – 1,0] c	0,858
(5)	0,0 [0,0 – 0,0] c	0,0 [0,0 – 0,0] cd	0,651
(6)	0,0 [0,0 – 0,0] c	0,0 [0,0 – 0,0] d	1,000
(7)	0,0 [0,0 – 0,0] c	0,0 [0,0 – 0,0] d	0,399
P	<0,001	<0,001	

Medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Já para a graduação de dor articular nos pacientes de ambos os grupos nos diferentes momentos de análise (Tabela 4), observou-se predominância absoluta de sensibilidade dolorosa leve para GT desde o período pré-cirúrgico até 60 dias após a cirurgia, apresentando redução estatisticamente significativa em relação ao momento pré-operatório apenas no período (6), com cerca de 90 dias após a cirurgia (Tabela 5). Para GT, houve predominância absoluta de sensibilidade dolorosa moderada no pré-cirúrgico, alternando para ausência de dor nas avaliações subsequentes, manifestando redução estatisticamente significativa da dor articular já no momento (3), com cerca de 15 dias após a cirurgia (Tabela 5). Em adição, foi possível observar que, mesmo GT apresentando nível doloroso estatisticamente superior ao GC no pré-cirúrgico, GT apresentou redução da graduação de dor à níveis semelhantes a GC nos

primeiros 15 dias após a cirurgia, com resultados estatisticamente superiores no momento (5), por volta de 60 dias após a cirurgia (Tabela 5).

Tabela 4. Valores absolutos (n) de avaliação clínica de dor articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Ausência de dor	Dor leve	Dor moderada	Dor severa	Dor severa sem permissão ao toque
GRUPO CONTROLE					
Pré-operatório	0	5	3	1	0
(3)	4	4	1	0	0
(4)	4	5	0	0	0
(5)	4	5	0	0	0
(6)	8	1	0	0	0
(7)	8	1	0	0	0
GRUPO TRATADO					
Pré-operatório	0	0	7	3	0
(3)	8	2	0	0	0
(4)	8	1	0	1	0
(5)	10	0	0	0	0
(6)	10	0	0	0	0
(7)	9	1	0	0	0

Tabela 5. Valores de medianas e percentis 25 e 75% das escalas de dor articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Dor articular	Controle	Tratado	P
Pré-operatório	1,0 [1,0 – 2,0] aB	2,0 [2,0 – 3,0] aA	0,022
(3)	1,0 [0,0 – 1,0] abA	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,112

(4)	1,0 [0,0 – 1,0] abA	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,210
(5)	1,0 [0,0 – 1,0] abA	0,0 [0,0 – 0,0] bB	0,009
(6)	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,343
(7)	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,0 [0,0 – 0,0] bA	1,000
P	<0,001	<0,001	

Medianas seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

A análise de acelerometria não revelou diferença estatística no nível de atividade dos pacientes, dentre de cada grupo, considerando-se os diferentes momentos, revelando que o nível de atividade pré e pós-cirúrgico manteve-se semelhante (Tabela 6). Também não foram identificadas diferenças estatisticamente relevantes quando comparadas as médias de atividades dos grupos GC e GT nos diferentes momentos (Tabela 7). Para GC e GT, foi possível observar predominância relevante de atividade sedentária nos pacientes durante as avaliações em todos os momentos (Tabela 6). Entretanto, considerando-se o nível de atividade vigoroso, foi possível observar diferença estatística entre os diferentes momentos. Para GC e GT, foi possível observar que, após a redução do tempo médio em vigoroso no período de 24 h após a cirurgia, houve aumento significativo do tempo em atividade vigorosa nos momentos 30 e 60 dias após o procedimento em relação ao pós-cirúrgico imediato (Tabela 6). Considerando-se as médias de tempo dos grupos, embora sem diferença estatisticamente significativa, foi possível observar que GT apresentou maior tempo de atividade vigorosa em relação a GC nos momentos (1), (2), (4), (5) e (6). Adicionalmente, em relação ao momento (4), período crucial na recuperação dos pacientes, não foram identificados resultados estatisticamente relevantes entre as médias de tempo de atividade nos pacientes de GC ou GT em relação a lesão de menisco, intensidade de DAD macroscópica, complicações transcirúrgicas, escala de claudicação visual e dor articular ($p \geq 0,05$).

Tabela 6. Nível de atividade em média de tempo (min), avaliado por acelerometria, em um período de 24 horas, em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Sedentário	Moderado	Vigoroso	P
GRUPO CONTROLE				
Pré-operatório	1318,4 ± 49,1 A	110,3 ± 46,7 B	11,3 ± 4,5 abC	<0,001
(1)	1322,1 ± 103,4 A	113,7 ± 99,4 B	4,2 ± 4,2 bC	<0,001
(2)	1283,4 ± 143,1 A	150,0 ± 142,0 B	6,5 ± 3,1 abC	<0,001
(3)	1299,4 ± 42,5 A	127,2 ± 39,5 B	13,4 ± 11,9 abC	<0,001
(4)	1270,3 ± 56,1 A	154,8 ± 48,6 B	14,9 ± 9,6 aC	<0,001
(5)	1285,5 ± 80,2 A	139,9 ± 69,7 B	14,6 ± 11,0 aC	<0,001
(6)	1322,2 ± 39,2 A	107,9 ± 35,3 B	9,9 ± 4,9 abC	<0,001
(7)	1243,2 ± 122,0 A	142,7 ± 78,7 B	16,2 ± 15,5 abC	<0,001
P	0,282	0,743	0,039	
GRUPO TRATADO				
Pré-operatório	1297,6 ± 62,4 A	130,5 ± 59,2 B	12,0 ± 5,7 abcC	<0,001
(1)	1328,8 ± 43,3 A	105,8 ± 39,3 B	5,4 ± 4,7 cC	<0,001
(2)	1324,7 ± 38,0 A	107,2 ± 34,2 B	8,1 ± 5,2 bcC	<0,001
(3)	1444,7 ± 405,0 A	127,7 ± 56,2 B	11,6 ± 10,3 abcC	<0,001
(4)	1439,5 ± 407,9 A	128,9 ± 62,2 B	15,6 ± 10,8 abC	<0,001
(5)	1291,1 ± 48,7 A	132,8 ± 41,3 B	16,1 ± 10,1 aC	<0,001
(6)	1277,8 ± 53,9 A	148,0 ± 47,9 B	14,3 ± 7,7 abcC	<0,001
(7)	1299,1 ± 52,6 A	126,1 ± 44,7 B	14,8 ± 13,0 abcC	<0,001
P	0,324	0,185	0,025	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$).

Tabela 7. Comparação das médias (min) do nível de atividade, avaliado por acelerometria, em um período de 24 horas, em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Sedentário	Moderado	Vigoroso	P
Pré-operatório			

Controle	1318,4 ± 49,1 A	110,3 ± 46,7 B	11,3 ± 4,5 C	<0,001
Tratado	1297,6 ± 62,4 A	130,5 ± 59,2 B	12,0 ± 5,7 C	<0,001
P	0,433	0,424	0,771	
Momento (1)				
Controle	1322,1 ± 103,4 A	113,7 ± 99,4 B	4,2 ± 4,2 C	<0,001
Tratado	1328,8 ± 43,3 A	105,8 ± 39,3 B	5,4 ± 4,7 C	<0,001
P	0,855	0,820	0,554	
Momento (2)				
Controle	1283,4 ± 143,1 A	150,0 ± 142,0 B	6,5 ± 3,1 C	<0,001
Tratado	1324,7 ± 38,0 A	107,2 ± 34,2 B	8,1 ± 5,2 C	<0,001
P	0,391	0,367	0,437	
Momento (3)				
Controle	1299,4 ± 42,5 A	127,2 ± 39,1 B	13,4 ± 11,9 C	<0,001
Tratado	1444,7 ± 405,0 A	127,6 ± 56,2 B	11,6 ± 10,3 C	<0,001
P	0,300	0,984	0,734	
Momento (4)				
Controle	1270,3 ± 56,0 A	154,8 ± 48,6 B	14,9 ± 9,6 C	<0,001
Tratado	1439,5 ± 407,9 A	128,9 ± 62,2 B	15,6 ± 10,8 C	<0,001
P	0,235	0,330	0,887	
Momento (5)				
Controle	1285,5 ± 80,2 A	139,9 ± 69,7 B	14,6 ± 11,0 C	<0,001
Tratado	1291,1 ± 48,7 A	132,8 ± 41,3 B	16,1 ± 10,1 C	<0,001
P	0,854	0,788	0,767	
Momento (6)				
Controle	1322,2 ± 39,2 A	107,9 ± 35,3 B	9,9 ± 4,9 C	<0,001
Tratado	1277,8 ± 53,9 A	148,0 ± 47,8 B	14,2 ± 7,7 C	<0,001
P	0,058	0,055	0,168	
Momento (7)				
Controle	1243,2 ± 122,0 A	142,7 ± 78,7 B	16,2 ± 15,5 C	<0,001
Tratado	1299,1 ± 52,6 A	126,0 ± 44,7 B	14,8 ± 13,0 C	<0,001
P	0,204	0,572	0,841	

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na linha diferiram estatisticamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

A interpretação das imagens radiográficas dos pacientes de ambos os grupos evidenciou tempo médio de ossificação completa de $86,7 \pm 18,0$ dias para GC e $81,0 \pm 20,2$ dias para GT, não havendo diferença estatística entre ambos. Entretanto, aos 30 dias após a cirurgia, com base em ambas as escalas de ossificação de 5 e 10 pontos, foi possível observar que GT apresentou superioridade estatística no nível da ossificação (Tabela 8).

Tabela 8. Avaliação do grau de ossificação radiográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, com base nas escalas de 5 e de 10 pontos (Kieves et al., 2015), aos 30 dias pós-cirúrgicos.

	Controle	Tratado	P
10 pontos	$2,9 \pm 1,8$ B	$4,8 \pm 1,8$ A	0,036*
5 pontos	$1,6 \pm 0,7$ B	$2,6 \pm 1,0$ A	0,017*

* Significância estatística ($p < 0,05$).

Em relação à análise de osteoartrite radiográfica, possibilitou-se encontrar diferença estatística no comportamento de ambos os grupos. Foi possível identificar que para GC houve aumento significativo dos parâmetros de osteoartrite ao longo das avaliações, principalmente aos 120 dias pós-cirúrgicos em relação ao período pré-operatório (Figura 7), bem como a partir de 60 dias pós-cirúrgicos em relação ao pós-operatório imediato (Tabela 9). Com referência a GT, foi possível identificar a redução de tais parâmetros, em especial a partir de 15 dias após a cirurgia, mantendo-se em níveis estatisticamente semelhantes ao pós-operatório imediato até a finalização do acompanhamento clínico, sem progressão da osteoartrite (Tabela 9, figura 7). Ademais, quando comparados os grupos GC e GT, observou-se diferença estatística nas medianas dos grupos, revelando escala de osteoartrite menor para GT em relação a GC a partir do momento (3) até o momento (7) (Tabela 9).

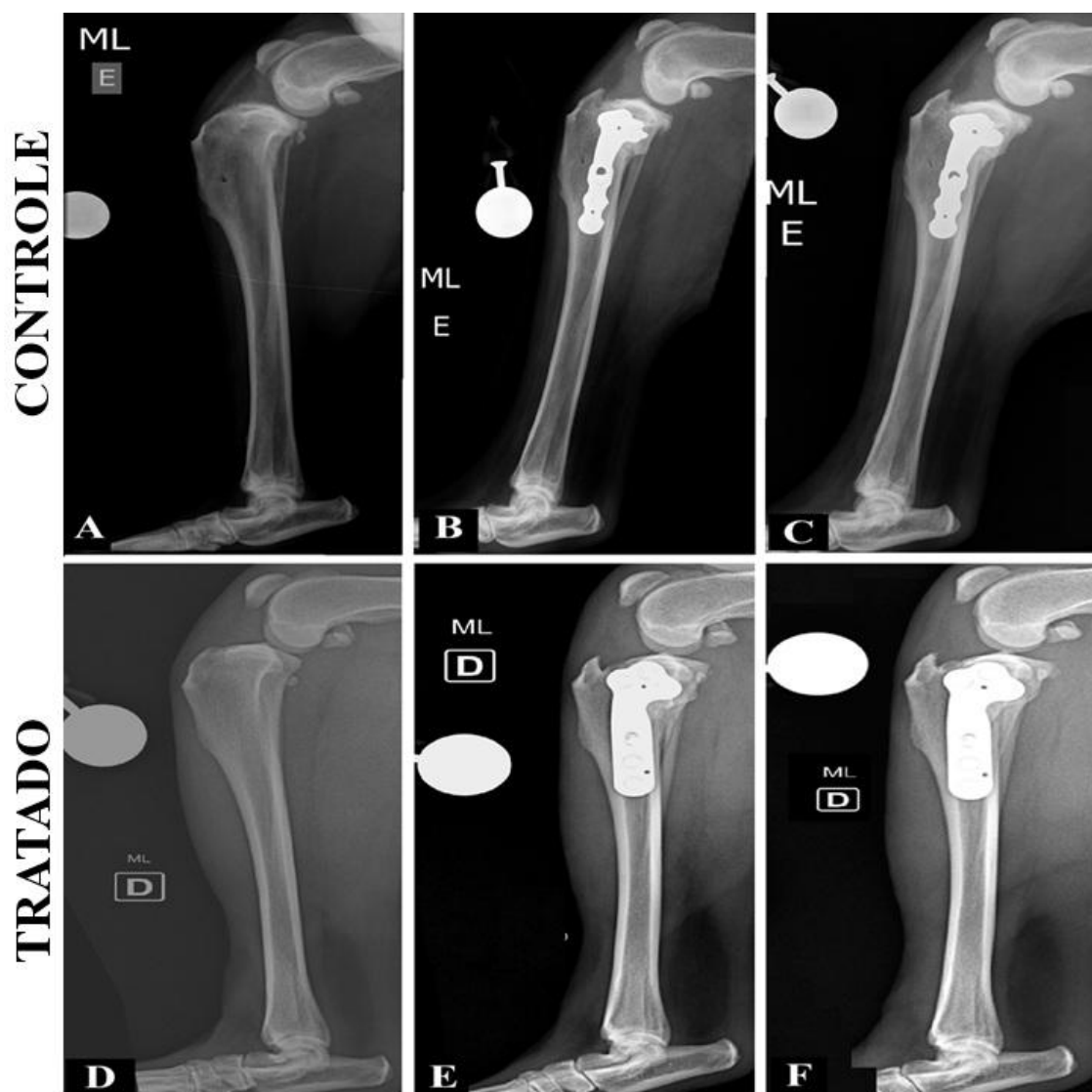


Figura 7. Representação da avaliação da progressão da osteoartrite radiográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células tronco mesenquimais caninas alógenas, com projeções médio-laterais de tíbia nos momentos pré-operatório (A e D) e pós-operatório de 60 dias (B e E) e 90 dias (C e F). Note que o grupo controle apresentou progressão da osteoartrite ao longo das avaliações, enquanto o grupo tratado foi capaz de mantê-la estável.

Tabela 9. Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para evolução da osteoartrite radiográfica em escala de seis pontos (Moore, Weeren e Paek, 2019) em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.

Momento de avaliação	Controle	Tratado	P
Pré-operatório	1,0 [1,0 – 2,0] bcA	1,0 [0,0 – 1,0] aA	0,169
Pós-operatório	0,0 [0,0 – 2,0] cA	0,0 [0,0 – 1,0] abA	0,394
(3)	0,0 [0,0 – 2,0] cA	0,0 [0,0 – 0,0] bA	0,228
(4)	2,0 [0,0 – 2,2] bcA	0,0 [0,0 – 0,0] bB	0,036
(5)	2,0 [1,5 – 2,2] abA	0,0 [0,0 – 0,0] bB	0,004
(6)	2,0 [2,0 – 2,2] abA	0,0 [0,0 – 0,0] bB	0,003
(7)	2,0 [2,0 – 3,0] aA	0,0 [0,0 – 0,0] bB	<0,001
P	<0,001	<0,001	

Medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram entre si pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$). Medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferiram entre si pelo Teste de Mann-Whitney ($P > 0,05$).

A análise de ultrassonografia articular, no período pré-cirúrgico, foi empregada para a identificação da lesão ligamentar, bem como da integridade de meniscos. Para ambos os grupos, todos os pacientes ($n = 19$, 100%) foram diagnosticados com lesão ligamentar, seja ruptura ou degeneração das fibras. No GC, um total de 4 pacientes (44,44%) foram diagnosticados com lesão meniscal, enquanto no GT, 7 pacientes (70%). A concordância da análise ultrassonográfica para lesão meniscal com a avaliação cirúrgica macroscópica foi performada. Nessa análise, observou-se que a o exame de ultrassom foi efetivo na identificação da integridade ou lesão de menisco em 6 pacientes de GC (66,7%) e 7 pacientes de GT (70%). Nessa análise, somando-se os achados de ambos os grupos, observou-se uma sensibilidade de 77,77% e uma especificidade de 60% da ultrassonografia articular na identificação de lesão de meniscos, resultando em acurácia de 68,42%.

Os parâmetros de osteoartrite ultrassonográfica adotados nesse estudo foram a efusão articular e a característica da cartilagem articular ao longo dos momentos de avaliação. No período pré-cirúrgico, houve predominância de efusão articular leve para ambos os grupos ($n = 8$, 88,88% para GC e $n = 6$, 60% para GT). Para GC, com base nos resultados absolutos, foi possível observar que houve manutenção do nível de efusão articular desde o momento (3) até o momento (6) pós-cirúrgicos, com efusão leve e moderada predominantemente

(n = 4, 44,44% cada), não havendo diferenciação estatística entre os momentos avaliados (Tabelas 9 e 10). Já em GT, houve predominância de efusão leve no momento (3) (n = 8, 80%), onde a partir do momento (4) até (7) houve maior destaque à ausência de efusão articular nos pacientes avaliados (Tabela 10), sendo possível observar redução estatisticamente significativa entre o nível de efusão a partir de 30 dias após a cirurgia em relação ao período pré-cirúrgico (Tabela 11). Ademais, observou-se diferença significativa referente às medianas de efusão articular entre ambos os grupos em todos os momentos pós-operatórios (Tabela 11).

Tabela 10. Valores absolutos (n) de avaliação ultrassonográfica de efusão articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Controle				Tratado			
	Ausente	+	++	+++	Ausente	+	++	+++
Pré-operatório	0	8	1	0	0	6	4	0
(3)	0	4	4	1	2	8	0	0
(4)	0	4	4	1	7	3	0	0
(5)	0	4	4	1	9	1	0	0
(6)	0	4	4	1	10	0	0	0
(7)	1	4	4	0	8	2	0	0

+: leve; ++: moderada; +++: severa.

Tabela 11. Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para intensidade de efusão articular ultrassonográfica em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.

Momento de avaliação	Controle	Tratado	P
Pré-operatório	1 [1 – 1]	1 [1 – 2] a	0,181
(3)	2 [1 – 2]	1 [1 – 1] ab	0,007
(4)	2 [1 – 2]	0 [0 – 1] b	<0,001
(5)	2 [1 – 2]	0 [0 – 0] b	<0,001
(6)	2 [1 – 2]	0 [0 – 0] b	<0,001

(7)	1 [1 – 2]	0 [0 – 0] b	0,002
P	0,068	<0,001	

0: ausente; 1: leve; 2: moderada; 3 severa. Medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram entre si pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$).

Com relação à cartilagem articular por meio de análise ultrassonográfica, observou-se que no período pré-cirúrgico houve predomínio de cartilagens normoespessas para GC ($n = 5$, 55,55%) e com espessamento ($n = 4$, 40%) para GT. Após 15 até 60 dias após a cirurgia, GC apresentava a maioria de seus pacientes com cartilagem espessada ($n = 8$, 88,88% em cada momento), revelando aumento significativo em até o momento (5), retornando aos padrões pré-cirúrgicos apenas por volta de 120 dias após o procedimento (Tabela 12 e 13). GT revelou maioria absoluta de cartilagens normoespessadas em todas as análises pós-operatórias (Tabela 12), revelando significância estatística na redução dos parâmetros inflamatórios a partir de 30 dias após a TPLO até o final das análises (Tabela 13). Por meio da comparação de ambos os grupos, verificou-se o GT com índices de alterações cartilaginosas significativamente menor em relação a GC desde 15 até 90 dias após a cirurgia (Tabela 13).

Tabela 12. Valores absolutos (n) de avaliação ultrassonográfica de cartilagem articular em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, nos diferentes momentos propostos de avaliação.

Momento de avaliação	Controle			Tratado		
	Normal	Afilada	Espessada	Normal	Afilada	Espessada
Pré- operatório	5	1	3	3	3	4
(3)	0	1	8	6	2	2
(4)	0	1	8	10	0	0
(5)	0	1	8	10	0	0
(6)	4	1	4	10	0	0
(7)	5	1	3	10	0	0

Tabela 13. Avaliação de medianas e percentis 25 e 75% para característica de cartilagem articular à ultrassonografia em pacientes do grupo controle e grupo tratado com secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas, ao longo do período de avaliações nos diferentes momentos.

Momento de avaliação	Controle	Tratado	P
Pré-operatório	0 [0 – 2] b	1 [0 – 2] a	0,456
(3)	2 [2 – 2] a	0 [0 – 1] ab	0,003
(4)	2 [2 – 2] a	0 [0 – 0] b	<0,001
(5)	2 [2 – 2] a	0 [0 – 0] b	<0,001
(6)	1 [0 – 2] ab	0 [0 – 0] b	<0,001
(7)	0 [0 – 2] b	0 [0 – 0] b	0,081
P	0,001	<0,001	

0: normoespessa; 1: afilada; 2: espessada. Medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram entre si pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$).

O coeficiente de correlação de Spearman foi realizado para parâmetros de osteoartrite radiográfica e intensidade de efusão articular ultrassonográfica nos momentos pré-operatório e (3), (4) e (5), juntamente com o tempo de consolidação e intensidade de DAD macroscópica para todos os pacientes do estudo (Tabela 14). O tempo de consolidação não sofreu influência das outras duas variáveis. Entretanto, observou-se tendência positiva no aumento da intensidade de osteoartrite radiográfica conforme a evolução do tempo nos momentos avaliados ($p \leq 0,05$), bem como da efusão articular ($p \leq 0,05$), embora nessa última apenas com os momentos pós-cirúrgicos. Já a degeneração articular apresentou correlação positiva moderada com a escala de osteoartrite radiográfica, embora relação inversa com a intensidade de efusão articular.

Tabela 14. Coeficiente de correlação de Spearman, seguido do valor de p em intervalo de confiança de 95%, para as variáveis de escala de osteoartrite radiográfica, efusão articular ultrassonográfica e doença articular degenerativa macroscópica em pacientes com insuficiência do ligamento cruzado cranial e submetidos à osteotomia de nivelamento do platô tibial.

Variáveis	OA ¹ pós-cirúrgica ²	OA ¹ em (3)	OA ¹ em (4)	OA ¹ em (5)	Tempo de consolidação	Efusão pré-cirúrgica	Efusão em (3)	Efusão em (4)	Efusão em (5)	DAD ³ macroscópica
OA ¹ pré-cirúrgica	0,761	0,797	0,728	0,713	0,009	-0,184	-0,085	0,031	0,047	0,384
OA ¹ pós-cirúrgica ²	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,968	0,444	0,756	0,894	0,843	0,102
OA ¹ em (3)		0,825	0,764	0,610	0,066	-0,253	-0,173	-0,039	-0,026	0,623
OA ¹ em (4)			<0,001*	0,006*	0,781	0,291	0,470	0,871	0,911	0,004*
OA ¹ em (5)				0,810	-0,001	-0,307	-0,092	-0,065	0,034	0,557
Tempo de consolidação				<0,001*	0,991	0,197	0,705	0,787	0,883	0,013*
Efusão pré-cirúrgica				0,848	-0,136	-0,400	-0,132	0,100	0,213	0,450
Efusão em (3)				<0,001*	0,570	0,009*	0,585	0,678	0,377	0,053
Efusão em (4)					-0,060	-0,496	0,194	0,375	0,489	0,154
Efusão em (5)					0,804	0,030*	0,418	0,111	0,034*	0,521
DAD ³ macroscópica						-0,012	0,253	0,025	0,184	-0,058
						0,957	0,291	0,917	0,444	0,809
							0,013	-0,081	-0,316	-0,060
							0,957	0,737	0,184	0,804
								0,739	0,737	-0,469
								<0,001*	<0,001*	0,042*
									0,916	-0,485
									<0,001*	0,035*
										-0,53
										0,020*

1 Osteoartrite; ² pós-cirúrgico imediato; ³ Doença articular degenerativa; * Significância estatística ($p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a administração intra-articular de vesículas extracelulares de células-tronco mesenquimais caninas alógenas em joelhos de cães submetidos à TPLO em decorrência de ILCC, um estudo inédito na medicina veterinária. Em concordância com a hipótese postulada previamente, foi possível observar eficácia do produto das CTMTA no contexto da aceleração da recuperação clínica dos pacientes submetidos à cirurgia, com base nos achados de parâmetros clínicos e imagenológicos. A osteoartrite presente no joelho dos pacientes acometidos por ILCC ocorre por consequência da instabilidade articular, sendo uma das principais causadoras de DAD (Villatoro et al., 2023). A correção cirúrgica utilizando TPLO, embora seja amplamente utilizada, de forma isolada não é suficiente para impedir a evolução da degeneração articular, tendo em vista a progressão mesmo após o procedimento (Shimada et al., 2020a). Dessa forma, foi possível observar, no curto prazo, que o secretoma de células tronco mesenquimais caninas foi capaz de reduzir os parâmetros inflamatórios articulares nos pacientes aqui analisados, corroborando com a hipótese apresentada previamente, podendo este figurar como um adjuvante ao tratamento da ILCC em cães.

Nesse âmbito, as CTMTAs são, de fato, uma alternativa terapêutica. Embora esperava-se anteriormente que seus efeitos seriam baseados na regeneração articular, atualmente é definido que seu principal mecanismo de ação baseia-se na redução da inflamação e melhoria do ambiente articular, favorecendo recuperação articular em curto, médio e longo prazos (Sasaki et al., 2019). Esse mecanismo de ação, denominado indireto, deve-se aos produtos da ação celular indireta, como seus secretomas (Carrera et al., 2023), os quais foram utilizados de forma intra-articular no presente estudo, onde resultados clínicos e imagenológicos satisfatórios foram alcançados com relação à redução de parâmetros ligados à osteoartrite do joelho, a qual torna o protocolo analgésico pós-cirúrgico bastante desafiador.

O controle de dor imediatamente após a TPLO é crucial e em alguns momentos, pode requerer bastante esforço. Tal característica se deve à manipulação cirúrgica, principalmente, o que gera retardo no retorno à função do membro (Soto et al., 2014). Portanto, métodos que reduzam a dor e acelerem a recuperação pós-operatória são

desejáveis e necessários. Nesse quesito, foi possível identificar que GT apresentou maior celeridade em relação a GC na redução da dor articular, demonstrando níveis estatisticamente reduzidos já 15 dias após o procedimento cirúrgico. A ação anti-inflamatória e imunomoduladora das CTMTAs e seus derivados podem estar diretamente relacionados com esse efeito analgésico (Sasaki et al., 2019). Seguindo a mesma linha de raciocínio, é esperado que, de curto a médio prazos, ocorra redução da carga no membro submetido à cirurgia, gerando variados graus de claudicação em virtude do processo inflamatório articular gerado (Wemmers et al., 2022). Nesse âmbito, também foi possível observar uma melhor resposta e recuperação do GT em relação ao GC, onde os pacientes que receberam secretoma reduziram os níveis de claudicação de forma significativa já com 15 dias após a TPLO.

Embora os resultados de escala de dor e de claudicação tenham sido favoráveis a GT, não foram identificadas diferenças estatísticas no presente estudo com relação ao nível de atividade por acelerometria dos pacientes em ambos os grupos formados. Tais resultados corroboram com achados prévios (Schuster et al., 2023), onde não houve diferença na atividade de cães pré e pós-tratamento cirúrgico da ILCC, embora a técnica cirúrgica empregada tenha sido diferente da TPLO utilizada no presente trabalho. Portanto, a recuperação clínica de tais pacientes não é estatisticamente relacionada a um aumento significativo do nível de atividade (Schuster et al., 2023) e, devido a esse fato, a análise de outros parâmetros foram associados nas análises propostas. Apesar de não haver diferença entre os grupos, foi possível observar que GT apresentou maiores médias de atividade vigorosa em relação a GC. Esse fato, somado aos demais achados de parâmetros clínicos de grau de claudicação e de dor articular, bem como imagenológicos, devem ser levados em conta na tomada de decisão pelo uso do adjuvante proposto neste estudo, visto os resultados favoráveis no retorno precoce à função do membro acometido.

A avaliação ultrassonográfica da evolução dos parâmetros de osteoartrite da articulação do joelho em pacientes caninos submetidos à TPLO é, também, objeto inédito de estudo. A ocorrência de ILCC sabidamente afeta a mecânica articular, culminando com alterações em estruturas extra articulares, como por exemplo o espessamento e aumento da rigidez do ligamento patelar, em suma pela instabilidade

craniocaudal da tíbia (Pennasilico et al., 2024). Porém, a avaliação de fatores intra-articulares ainda é falha, principalmente no período após a correção cirúrgica. As alterações relacionadas às lesões articulares agudas podem figurar como importantes ferramentas de avaliação articular na osteoartrite, como por exemplo a efusão articular e espessura da cartilagem articular (Ramírez-Flores et al., 2017). Portanto, a intensidade de efusão e a característica da cartilagem articular foram usados como critérios de avaliação do comportamento da inflamação articular por meio da ultrassonografia neste estudo.

A efusão articular figura como umas das primeiras alterações após a ocorrência de injúrias e desponta como parâmetro de avaliação em modelos experimentais de osteoartrite canina, mesmo que por outros métodos de diagnóstico (D'Anjou et al., 2008). Em um cenário de ILCC induzida experimentalmente em cães, identificou-se pico de efusão articular após oito semanas de lesão, com regressão espontânea por volta de 26 semanas após a ruptura (D'Anjou et al., 2008). No presente estudo, embora não tenha sido feito o acompanhamento a longo prazo no período pré-cirúrgico, a maioria dos pacientes de ambos os grupos já apresentava certo nível de efusão articular antes da cirurgia, em virtude da instabilidade articular que leva à inflamação. Apesar de ser esperado que a estabilidade relativa causada pela TPLO culmine com redução da inflamação articular, a osteoartrite ainda se faz presente (Shimada et al., 2020a), fato que pode ser comprovado pela presença de efusão, predominantemente em níveis leves e moderados, no período pós-cirúrgico no GC. Dessa forma, percebe-se que a cirurgia por si só não foi capaz de reduzir o status inflamatório articular. Por outro lado, no GT, foi possível observar que houve redução do parâmetro de efusão articular ao longo do tempo, especialmente a partir de 30 dias após o procedimento, inferindo que a ação do secretoma de CTMTA nesse cenário pode ser favorável.

Uma vez que a cartilagem articular pode apresentar certo grau de lesão em todos os pacientes acometidos por ILCC e figurar na fisiopatologia de ocorrência de lesão articular (Agnello, Hayashi e Brown, 2021), sua avaliação e estabelecimento de mecanismos de tratamento podem representar uma peça-chave na potencialização da recuperação de pacientes com lesão ligamentar. A cartilagem articular, secundariamente ao processo de instabilidade e inflamação da articulação, pode

sofrer diferentes graus de injúrias e se comportar de diferentes formas de acordo com o tempo de evolução do quadro. Espera-se que, em lesões agudas, haja edema da cartilagem, enquanto em quadros crônicos, observa-se afinamento da cartilagem, erosões e formações de osteófitos (Bockstahler et al., 2009; Glyn-Jones et al., 2015; Kuyinu et al., 2016). O parâmetro de espessamento da cartilagem baseou-se em critérios previamente estabelecidos de análise de osteoartrite por parâmetros ultrassonográficos (Ramírez-Flores et al., 2017), embora a característica de afinamento cartilaginoso tenha sido adicionada em virtude da heterogeneidade dos grupos, tempo de progressão das avaliações, bem como características dos pacientes adicionados aos grupos. Para GC, identificou-se prevalência de espessamento de cartilagem até 60 dias após a cirurgia, o que pode ser esperado em casos de injúria articular aguda e corrobora com resultados prévios (Ramírez-Flores et al., 2017). Em contrapartida, pacientes do GT mantiveram a cartilagem normoespessa em sua maioria no mesmo período. Esse resultado pode estar relacionado com a capacidade do secretoma de CTMTA em reduzir a inflamação articular (Carrera et al., 2023).

Com relação a capacidade ultrassonográfica na detecção de lesões meniscais, observou-se sensibilidade de 77,77% e especificidade de 60% de acordo com os resultados aqui evidenciados. Por tratar-se de uma análise operador-dependente e variável de acordo com a qualidade do equipamento utilizado, os valores de sensibilidade e especificidade resultantes das análises aqui feitas foram menores em relação aos de estudo anterior (Arnault et al., 2009). Entretanto, resultados melhores foram visualizados com relação a identificação de lesão do ligamento cruzado cranial. Tal variável pode ser derivada, potencialmente, da qualidade do aparelho e transdutores utilizados, visto o referido trabalho ser datado de 2009, utilizando-se de equipamentos com qualidade inferior aos disponíveis atualmente.

Em adição à análise ultrassonográfica dos padrões articulares de osteoartrite, o estudo levou em consideração padrões radiográficos de inflamação articular. Adotou-se uma escala de seis pontos, onde caracteriza-se desde a articulação saudável até a com sinais de osteoartrite mais avançados em virtude da disseminação da osteofitose (Moore, Weeren e Paek, 2019). Foi possível evidenciar o aumento da escala de osteoartrite para GC ao longo das avaliações, enquanto GT apresentou manutenção dos padrões pós-operatórios ao longo de toda a avaliação. O avanço da

osteofitose indica progressão da lesão articular, bem como piora no prognóstico a longo prazo do paciente (Engdahl et al., 2023). Portanto, evitar a progressão da doença articular representa um ponto positivo da terapia proposta, corroborando com resultados experimentais prévios (Song et al., 2021), bem como com a hipótese aqui postulada. Juntamente com a avaliação da osteoartrite por meio de exames radiográficos, possibilitou-se a avaliação da consolidação óssea ao longo do tempo.

Relacionado ao tempo necessário à ossificação completa da osteotomia da TPLO, não foram identificadas diferenças estatísticas no tempo médio de ambos os grupos. Porém, observou-se que GT apresentou ossificação mais adiantada em relação a GC aos 30 dias após a cirurgia, podendo representar uma possível aceleração da recuperação cirúrgica. O efeito direto da aplicação intra-articular de CTMTA caninas alógenas foi avaliado em pacientes submetidos à TPLO, revelando potencial de acelerar a ossificação em relação aos pacientes controle (Pennasilico et al., 2023), porém a ação do secretoma de células-tronco mesenquimais na ossificação da osteotomia radial da TPLO é uma área inexplorada na medicina veterinária, sem avaliações semelhantes previamente. O efeito superior da CTMTA intra-articular comparada ao secretoma pode ser diretamente relacionado à capacidade de migração celular da CTMTA ao sítio de osteotomia (Pennasilico et al., 2023). Embora detenha ampla concentração de fatores osteogênicos, o secretoma de CTMTA não é capaz de realizar migração, apresentando efeito tecidual local no sítio de administração (Carrera et al., 2023). Portanto, o favorecimento da ossificação poderia ser atingido a partir da administração local do secretoma no sítio da osteotomia radial. Por outro lado, a aceleração no processo de recuperação clínica e retorno precoce ao apoio de peso no membro acometido poderiam figurar como aceleradores da ossificação da osteotomia (Wilson, Roush e Renberg, 2018), configurando um efeito indireto da aplicação intra-articular do secretoma na reparação óssea. Nesse quesito, pode-se associar a ausência de diferença a uma média de idade maior em GT, bem como ao maior número de complicações que podem gerar atraso no processo de consolidação óssea, com destaque à osteomielite identificada em um paciente do grupo.

A ocorrência de complicações foi observada neste estudo e podem apresentar certo grau de influência nos resultados. Em virtude da ampla difusão, espera-se a

ocorrência de complicações maiores ou menores que podem variar de 10% a 34% em pacientes submetidos à TPLO, infortúnios esses que influenciam direta e negativamente na recuperação pós-operatória dos pacientes (Bergh e Peirone, 2012). Na presente pesquisa, foram presenciadas complicações trans cirúrgicas em três pacientes, sendo 2 cães de GC e 1 de GT, e pós-cirúrgicas em cinco pacientes no total, sendo 2 de GC e 3 de GT, as quais podem ter influenciado negativamente nos resultados aqui obtidos. Considerando-se as complicações cirúrgicas, espera-se que a lesão iatrogênica parcial do ligamento patelar possa ter causado certa limitação na recuperação do paciente no quesito dor e claudicação. Entretanto, para ambos os pacientes que sofreram lesão de ramo arterial da artéria tibial cranial, espera-se que não tenha ocorrido prejuízos nos resultados fornecidos, uma vez que tal lesão não é relacionada com atrasos na ossificação ou ocorrência de outras complicações (Ferrari et al., 2024), não figurando como um agravante aos parâmetros aqui analisados. Com relação às complicações pós-cirúrgicas durante os períodos de avaliação, espera-se que estejam mais diretamente relacionadas com possíveis alterações nas variáveis coletadas. A ocorrência de osteomielite em um dos pacientes do GT pode ter sido responsável pelo aumento do tempo necessário à consolidação óssea, bem como pode estar associada ao aumento dos indicadores inflamatórios nas análises imagenológicas (Husi et al., 2023). Ainda, o prolongamento do uso de gabapentina em 3 pacientes pode ter afetado a análise dos parâmetros relacionados à dor.

Adicionalmente ao previamente discutido, uma heterogeneidade foi identificada quanto a lesão meniscal nos grupos. É comum a ocorrência de lesão de menisco em pacientes com ILCC. Espera-se que animais mais velhos, com maior tempo de evolução da ILCC, bem como com doença articular degenerativa mais avançada possuam maiores chances de ocorrência (Fung, Ficklin e Okafor, 2023). No presente estudo, a lesão meniscal não foi relacionada a maior grau de claudicação, DAD ou maior tempo de evolução nos pacientes avaliados, destoando da literatura consultada. Embora a ocorrência lesão de menisco não afete diretamente a progressão da osteoartrite ao longo do tempo, influencia notoriamente a claudicação dos pacientes submetidos à TPLO por até seis meses (Saban et al., 2023), tornando importante a sua detecção e tratamento. Portanto, a ocorrência de maior número de lesões

meniscais em pacientes do GT podem ter afetado diretamente os resultados pós-cirúrgicos nas análises propostas.

A utilização de secretoma de CTMTA foi aqui proposto, em suma, para reduzir o efeito inflamatório articular pelas variáveis clínicas esperadas da TPLO, bem como pela maior viabilidade financeira e laboral durante sua obtenção em relação aos demais subprodutos da secreção de CTMTA. Os efeitos das CTMTAs derivadas de tecido adiposo para a ortopedia veterinária são inúmeros e seu modo de ação pode se dar de diversas formas, mesmo que estudos de impacto sejam escassos na medicina veterinária (Marx, Silveira e Nardi, 2015). Embora, ainda assim, diversos trabalhos embasam a procura por novas alternativas de tratamento e novas formas de utilizá-las. Como exemplo, Pennasilico et al. (2023) avaliaram a aplicação intra-articular de tecido adiposo macerado após a cirurgia de TPLO por meio de acompanhamento radiográfico de consolidação. Como resultado, foi identificado que o grupo que recebeu o tecido adiposo apresentou um processo de consolidação óssea acelerado em relação ao grupo controle. Esse fato pode ser diretamente relacionado à presença de células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo no tecido implantado na articulação (Marx, Silveira e Nardi, 2015; Pennasilico et al., 2023). Portanto, esse grupo celular e os produtos de sua secreção apresentam um potencial promissor nas terapias adjuvantes em ortopedia, corroborando para os objetivos aqui postulados. Além da utilização da terapia celular, outros tratamentos adjuvantes são propostos.

Volz et al. (2024) avaliaram a utilização de plasma rico em plaquetas e ácido hialurônico intra-articulares pós-TPLO na recuperação clínica a curto e longo prazo em cães. Durante os seis meses de avaliações proposto no estudo, não houve diferença estatística entre os grupos tratados ou não, evidenciando que a recuperação pós-operatória da TPLO é favorável independentemente da utilização dos adjuvantes intra-articulares elencados. Não houve diferença estatística na comparação dos estudos clínicos, radiográficos, questionários de satisfação de tutores e na avaliação objetiva da marcha por plataforma de pressão (Volz et al., 2024). Tais parâmetros diferem dos resultados aqui apresentados, onde o adjuvante proposto foi capaz de promover a melhora nos parâmetros clínicos e imagenológicos nos pacientes incluídos no estudo.

Taroni et al. (2017) compararam o tratamento intra-articular com CTMTA em dose única *versus* tratamento oral por 30 dias com anti-inflamatório não esteroidal em cães submetidos a TPLO em relação às avaliações clínicas e de marcha. Como resultado, foi possível observar processo de ossificação até 30 dias pós-cirúrgicos no grupo tratado com células-tronco mesenquimais. No acompanhamento até seis meses, não foram observadas diferenças entre os grupos, evidenciando que o uso intra-articular em dose única de células mesenquimais pode ser tão satisfatório quanto o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, podendo ser uma alternativa ao uso desses fármacos (Taroni et al., 2017). No estudo aqui apresentado, ambos os grupos receberam tratamento anti-inflamatório como forma de padronização. Dessa maneira, objetivou-se avaliar a potencialização do efeito anti-inflamatório e analgésico em curto prazo das vesículas extracelulares, satisfazendo a hipótese previamente postulada pelos autores.

Martini et al. (2017) avaliaram o efeito da suplementação oral com nutracêuticos articulares, principalmente à base de condroitina e glucosamina, associada à cirurgia (TPLO) *versus* a TPLO sem suplementação para parâmetros clínicos e radiográficos de osteoartrite. Dessa maneira, identificou-se que o suplemento alimentar foi capaz de promover melhora na recuperação clínica dos pacientes, embora não houve redução na progressão radiográfica da osteoartrite. Portanto, pode-se inferir a superioridade da utilização de secretoma de CTMTA intra-articular em detrimento ao uso oral de nutracêuticos, visto a capacidade de reduzir a progressão da osteoartrite tanto nos parâmetros radiográficos quanto nos parâmetros ultrassonográficos aqui utilizados.

Já a suplementação oral com colágeno desnaturado do tipo II foi avaliada na recuperação pós-operatória de pacientes submetidos à TPLO (Assies et al., 2024). Os resultados identificados nas análises da marcha evidenciaram maior pico de força no grupo tratado, bem como retorno aos padrões fisiológicos com 12 semanas após o procedimento, metade do tempo em relação ao grupo controle. Porém, o tratamento levou em conta a administração oral do medicamento por 24 semanas após a cirurgia, fato que pode ser ponto negativo na aceitação de tutores, contrário ao proposto no método aqui evidenciado, de uma única administração intra-articular pós-cirúrgica. Ademais, não foram evidenciados os efeitos do nutracêutico nos parâmetros de

osteoartrite, enquanto o secretoma aqui proposto, além de melhoria nos parâmetros clínicos de marcha, também foi capaz de reduzir sinais imagenológicos de inflamação articular.

Quando se avalia outros modelos de osteoartrite canina, como a do quadril, por exemplo, as CTMTAs apresentaram resultados superiores ao plasma rico em plaquetas nos quesitos de redução da claudicação e da dor articular quando feita de forma intra-articular (Okamoto-Okubo et al., 2021). E quando feitos de forma simultânea intra-articular, ambos demonstraram resultados satisfatórios na redução da dor articular, melhoria na qualidade de vida e retorno à simetria da marcha em pacientes previamente assimétricos (Sanghani-Kerai et al., 2021). Tais resultados exibem a relação positiva das CTMTA no tratamento de modelos caninos de osteoartrite. Embora tais células tenham sido empregadas por diferentes métodos nos trabalhos citados, resultam no efeito proposto e demonstrado neste estudo, onde seus produtos de secreção são capazes de gerar efeito similar no controle da inflamação articular.

A ruptura do ligamento cruzado cranial canina cria um modelo de osteoartrite, seja natural ou experimental, que reflete padrões semelhantes ao modelo humano, tornando-se uma modalidade de estudos preliminares para tratamentos destinados a humanos (Muir et al., 2016). Dessa forma, diversos estudos são preconizados inicialmente na medicina veterinária para que, então, possam ser trasladados para a espécie humana, principalmente estudos conduzidos com a utilização de células mesenquimais, sejam de origem humana, ou de origem animal, apresentando resultados de redução da osteoartrite sem reações alérgicas secundárias à origem celular (Lamers et al., 2020; Perry et al., 2024). Portanto, os resultados promissores aqui elencados poderão, futuramente, proporcionar novas investigações a fim de fundamentar o uso do secretoma de células-tronco mesenquimais para modelos de osteoartrite clínica em humanos.

A despeito de tratar-se de um estudo prospectivo, algumas limitações foram identificadas durante a execução desta pesquisa. Inicialmente, a heterogeneidade dos grupos pode ter sido fator limitante para os resultados obtidos, onde o GC apresentou menor número de pacientes em relação a GT, bem como as raças, porte e idade dos pacientes não foram idênticas para todos inclusos. Ainda, os diferentes índices de

lesão meniscal e presença e intensidade de progressão da doença articular degenerativa entre os pacientes dos grupos pode também ser um fator atuante na diferenciação dos padrões de grupos. Portanto, futuros estudos prospectivos, com maior número de pacientes e adoção de novas fontes de análises objetivas se fazem necessários para avaliação da modalidade terapêutica em questão no modelo de osteoartrite proposto.

6. CONCLUSÃO

O uso intra-articular de secretoma de células-tronco mesenquimais caninas alógenas apresenta-se como alternativa adjuvante promissora para a redução dos parâmetros clínicos e de imagem associados à osteoartrite, bem como acelerar a recuperação clínica dos pacientes, nos períodos de curto e médio prazos, após a realização de TPLO em cães acometidos por ILCC.

7. REFERÊNCIAS

Agnello KA, Hayashi K, Brown DC (2021) Arthroscopic Articular Cartilage Scores of the Canine Stifle Joint with Naturally Occurring Cranial Cruciate Ligament Disease. **Veterinary And Comparative Orthopaedics and Traumatology** 34(3):153-160.

Assies M, Berger B, Stegen B, Rohwedder T, Doherr M, Böttcher P (2024) Evaluation of the Effects of an Undenatured Collagen Type-2-Based Nutraceutical (ARTHROSHINE® HA²) on Recovery Time after TPLO in Dogs: a prospective, randomized study with objective gait analysis as the primary outcome measure. **Animals** 14(2):298.

Ballagas AJ, Montgomery RD, Henderson RA, Gillette R (2016) Pre- and Postoperative Force Plate Analysis of Dogs with Experimentally Transected Cranial Cruciate Ligaments Treated Using Tibial Plateau Leveling Osteotomy. **Veterinary Surgery** 33(2):187-190.

Barnes DC, Trinterud T, Owen MR, Bush MA (2016) Short-term outcome and complications of TPLO using anatomically contoured locking compression plates in small/medium/breed dogs with “excessive” tibial plateau angle. **Journal of Small Animal Practice** 57(6):305-310.

Bockstahler BA, Hulse DA, Carmichael S, Marshall WG (2009) A review of osteoarthritis and obesity: current understanding of the relationship and benefit of obesity treatment and prevention in the dog. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology** 22(5):339-345.

Bousnaki M, Bakopoulou A, Kritis A, Koidis P (2020) The Efficacy of Stem Cells Secretome Application in Osteoarthritis: a systematic review of in vivo studies. **Stem Cell Reviews and Reports** 16(6):1222-1241.

Carrera ALC, Minto BW, Malard P, Brunel HSS (2023) The Role of Mesenchymal Stem Cell Secretome (Extracellular Microvesicles and Exosomes) in Animals' Musculoskeletal and Neurologic-Related Disorders. **Veterinary Medicine International** 2023(1):8819506.

Arnault F, Cauvin E, Viguier E, Kraft E, Sonet J, Carozzo C (2009) Diagnostic value of ultrasonography to assess stifle lesions in dogs after cranial cruciate ligament rupture: 13 cases. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology** 22(6):479-485.

Chen Y, Xue K, Zhang X, Zheng Z, Liu K (2018) Exosomes derived from mature chondrocytes facilitate subcutaneous stable ectopic chondrogenesis of cartilage progenitor cells. **Stem Cell Research & Therapy** 9(318):1-14.

Cook JL, Tomlinson JL, Kreeger JM, Cook CR (1999) Induction of Meniscal Regeneration in Dogs Using a Novel Biomaterial. **The American Journal of Sports Medicine** 27(5):658-665.

Cosenza S, Ruiz M, Toupet K, Jorgensen C, Noël D (2017) Mesenchymal stem cells derived exosomes and microparticles protect cartilage and bone from degradation in osteoarthritis. **Scientific Reports** 7(16214):1-12.

D'Anjou MA, Moreau M, Troncy E, Martel-Pelletier J, Abram F, Raynauld JP, Pelletier JP (2008) Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography. **Veterinary Surgery** 37(2): 166-177.

Deluke AM, Allen DA, Wilson ER, Lineberger JA, Lehenbauer TW, Fabiani M, Poteet BA (2012) Comparison of radiographic osteoarthritis scores in dogs less than 24 months or greater than 24 months following tibial plateau leveling osteotomy. **The Canadian Veterinary Journal** 53(10):1095-1099.

Diomaiuto E, Principe V, Luca A, Laperuta F, Alterisio C, Loria A (2021) Exosomes in Dogs and Cats: an innovative approach to neoplastic and non-neoplastic diseases. **Pharmaceuticals** 14(8):766.

Engdahl K, Boge GS, Ingman J, Näslund V, Ley CJ (2022) Degree of osteophyte formation seen on radiographs provides useful prognostic information for dogs with cruciate ligament disease. **Veterinary Record** 192(7):e2478.

Ferrari F, Tamburro R, Longo M, Brioschi FA, Auletta L, Stefanello D (2024) Effect of cranial tibial artery laceration on radiographic bone healing and perioperative complications in dogs undergoing tibial plateau leveling osteotomy. **Research in Veterinary Science** 175(1):105322.

Franklin SP, Gilley RS, Palmer RH (2010) Meniscal injury in dogs with cranial cruciate ligament rupture. **Compend. Contin. Educ. Vet.** 30(10):1-10.

Fung C, Ficklin M, Okafor CC (2023) Associations between meniscal tears and various degrees of osteoarthritis among dogs undergoing TPLO for cranial cruciate ligament rupture. **BMC Research Notes** 16(1):36.

Glyn-Jones S, Palmer AJR, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H, Carr AJ (2015) Osteoarthritis. **The Lancet** 386(9991):376-387.

Gowen A, Shahjin F, Chand S, Odegaard KE, Yelamanchili SV (2020) Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles: challenges in clinical applications. **Frontiers in Cell and Developmental Biology** 8(149):1-8.

Guillén MI, Tofiño-Vian M, Silvestre A, Castejón MA, Alcaraz MJ (2021) Role of peroxiredoxin 6 in the chondroprotective effects of microvesicles from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. **Journal of Orthopaedic Translation** 30(2021):61-69.

Harman R, Carlson K, Gaynor J, Gustafson S, Dhupa S, Clement K, Hoelzler M, Mccarthy T, Schwartz P, Adams CA (2016) Prospective, Randomized, Masked, and Placebo-Controlled Efficacy Study of Intraarticular Allogeneic Adipose Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis in Dogs. **Frontiers in Veterinary Science** 3(81):1-10.

Heidorn SN, Canapp SO, Zink CM, Leasure CS, Carr BJ (2018) Rate of return to agility competition for dogs with cranial cruciate ligament tears treated with tibial plateau leveling osteotomy. **Journal of The American Veterinary Medical Association** 253(11):1439-1444.

Husi B, Overesch G, Forterre F, Rytz U (2023) Surgical site infection after 769 Tibial Plateau Leveling Osteotomies. **Frontiers in Veterinary Science** 10(13):1133813.

Jeong J, Jeong SM, Kim SE, Lewis DD, Lee H (2021) Subsequent meniscal tears following tibial tuberosity advancement and tibial plateau leveling osteotomy in dogs with cranial cruciate ligament deficiency: an in vivo experimental study. **Veterinary Surgery** 50(5):966-974.

Kieves NR, Mackay CS, Adducci K, Rao S, Goh C, Palmer RH, Duerr FM (2015) High energy focused shock wave therapy accelerates bone healing. **Veterinary And Comparative Orthopaedics and Traumatology** 28(6):425-432.

Kuyinu EL, Narayanan G, Nair LS, Laurencin CT (2016) Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research** 11(19):1-27.

Lamers K, Baquero M, Karrow N, Hurtig M (2020) Intra-articular xenogeneic mesenchymal stem cell-based therapy increases CD4+CD25+ cells in synovial fluid. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 227(1):110085.

Laube RL, Kerstetter KK (2020) Prevalence and Risk Factors for Bilateral Meniscal Tears Identified during Treatment for Cranial Cruciate Ligament Disease Via Tibial Plateau Levelling Osteotomy in Dogs. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology** 34(1):37-42.

Li Y, Tu Q, Xie D, Chen S, Gao K, Xu X, Zhang Z, Mei X (2022) Triamcinolone acetonide-loaded nanoparticles encapsulated by CD90+ MCSs-derived microvesicles drive anti-inflammatory properties and promote cartilage regeneration after osteoarthritis. **Journal of Nanobiotechnology** 20(150):1-20.

Lindhorst E, Vail TP, Guilak F, Wang KHW, Setton TLA, Vilim V, Kraus VB (2000) Longitudinal characterization on synovial fluid biomarkers in the canine meniscectomy model of osteoarthritis. **Journal of orthopaedic research** 18(2):269-280.

Liu Y, Lin L, Zou R, Wen C, Wang Z, Lin F (2018) MSC-derived exosomes promote proliferation and inhibit apoptosis of chondrocytes via lncRNA-KLF3-AS1/miR-206/GIT1 axis in osteoarthritis. **Cell Cycle** 17(21-22):2411-2422.

Löfqvist K, Kjelgaard-Hansen M, Nielsen MBM (2018) Usefulness of C-reactive protein and serum amyloid A in early detection of postoperative infectious complications to tibial plateau leveling osteotomy in dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica** 60(1):1-8.

Mahn MM, Cook JL, Cook CR, Balke MT (2005) Arthroscopic Verification of Ultrasonographic Diagnosis of Meniscal Pathology in Dogs. **Veterinary Surgery** 34(4):318-323.

Malek S, Weng HY, Martinson SA, Rochat MC, Béraud R, Riley CB (2020) Evaluation of serum MMP-2 and MMP-3, synovial fluid IL-8, MCP-1, and KC concentrations as biomarkers of stifle osteoarthritis associated with naturally occurring cranial cruciate ligament rupture in dogs. **Plos One** 15(11):e0242614.

Martini FM, Bellesini AB, Miolo A, Coco L, Fanizzi FP, Crovace A (2017) Combining a joint health supplement with tibial plateau leveling osteotomy in dogs with cranial cruciate ligament rupture. An exploratory controlled trial. **International Journal of Veterinary Science and Medicine** 5(2):105-112.

Marx C, Silveira MD, Nardi NB (2015) Adipose-Derived Stem Cells in Veterinary Medicine: characterization and therapeutic applications. **Stem Cells and Development** 24(7):803-813.

Mocchi M, Bari E, Dotti S, Villa R, Berni P, Conti V, Del Bue M, Squassino GP, Segale L, Ramoni R, Torre ML, Perteghella S, Grolli S (2021) Canine Mesenchymal Cell Lysosecretome Production and Safety Evaluation after Allogenic Intraarticular Injection in Osteoarthritic Dogs. **Animals** 11(11):3271.

Moore EV, Weeren R, Paek M (2019) Extended long-term radiographic and functional comparison of tibial plateau leveling osteotomy vs tibial tuberosity advancement for cranial cruciate ligament rupture in the dog. **Veterinary Surgery** 49(1):146-154.

Muir P, Hans EC, Racette M, Volstad N, Sample SJ, Heaton C, Holzman G, Schaefer SL, Bloom DD, Bleedorn JA (2016) Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Molecular Markers of Inflammation in Dogs with Cruciate Ligament Rupture. **Plos One** 11(8):e0159095.

Nanda A, Hans EC (2019) Tibial Plateau Leveling Osteotomy for Cranial Cruciate Ligament Rupture in Canines: patient selection and reported outcomes. **Veterinary Medicine: Research and Reports** 10(1):249-255.

Okamoto-Okubo CE, Cassu RN, Joaquim JGF, Mesquita LR, Rahal SC, Oliveira HS, Takahira R, Arruda I, Maia L, Landim FC (2021) Chronic pain and gait analysis in dogs with degenerative hip joint disease treated with repeated intra-articular injections of platelet-rich plasma or allogeneic adipose-derived stem cells. **Journal of Veterinary Medical Science** 83(5):881-888.

Peirone B, Bergh MS (2012) Complications of tibial plateau levelling osteotomy in dogs. **Veterinary And Comparative Orthopaedics and Traumatology** 25(5):349-358.

Pennasilico L, Bella C, Sassaroli S, Salvaggio A, Roggiolani F, Piccionello AP (2023) Effects of Autologous Microfragmented Adipose Tissue on Healing of Tibial Plateau Levelling Osteotomies in Dogs: a prospective clinical trial. **Animals** 13(13):2084.

Pennasilico L, Volta A, Sassaroli S, Bella C, Riccio V, Pilati N, Tambella AM, Dini F, Piccionello AP (2024) Ultrasound and Elastosonographic Features of the Patellar Ligament in Dogs Affected by Cranial Cruciate Ligament Disease. **Veterinary Sciences** 11(3):126.

Perry J, Mennan C, Cool P, Mccarthy HS, Newell K, Hopkins T, Hulme C, Wright KT, Henson FMD, Roberts S (2024) Intra-Articular Injection of Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells Reduces Radiographic Osteoarthritis in an Ovine Model. **Cartilage** 0(0):0. Versão online pré-impressão. Doi: 10.1177/19476035241287832.

Ramírez-Flores GI, Angel-Caraza J, Quijano-Hernández IA, Hulse DA, Beale BS, Victoria-Mora JM (2017) Correlation between osteoarthritic changes in the stifle joint in dogs and the results of orthopedic, radiographic, ultrasonographic and arthroscopic examinations. **Veterinary Research Communications** 41(2):129-137.

Ritzo ME, Ritzo BA, Siddens AD, Summerlott S, Cook JL (2014) Incidence and Type of Meniscal Injury and Associated Long-Term Clinical Outcomes in Dogs Treated Surgically for Cranial Cruciate Ligament Disease. **Veterinary Surgery** 43(8):952-958.

Saban C, Hebrard L, Roels J, Harel M, Livet V, Cachon T (2023) Concurrent bucket handle meniscal tear treated with arthroscopic partial meniscectomy does not influence midterm outcomes after tibial plateau leveling osteotomy. **American Journal of Veterinary Research** 84(10):1-8.

Sabry D, Shamaa A, Amer M, El-Tookhy O, Abdallah A, Hassib DMA, Amer E, Elamir A (2018) The effect of mesenchymal stem cell derived microvesicles in repair of femoral chondral defects in dogs. **Journal of Musculoskeletal Research** 21(2):1850006.

Sanghani-Kerai A, Black C, Cheng SO, Collins L, Schneider N, Blunn G, Watson F, Fitzpatrick N (2021) Clinical outcomes following intra-articular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis in dogs characterized by weight-bearing asymmetry. **Bone & Joint Research** 10(10):650-658.

Sasaki A, Mizuno M, Mochizuki M, Sekiya I (2019) Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration in dogs. **World Journal of Stem Cells** 11(5):254-269.

Schmutterer JM, Augat P, Greinwald M, Meyer-Lindenberg A (2022) Evaluation of Meniscal Load and Load Distribution in the Canine Stifle after Tibial Plateau Levelling Osteotomy with Postoperative Tibia Plateau Angles of 6 and 1 Degrees. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology** 35(2):73-80.

Schuster LAH, Carvalho AL, Santos EAR, Oliveira MP, Camacho-Rozo CA, Monteiro ER, Ferreira MP, Alievi MM (2023) Physical activity measured with an accelerometer

in dogs following extracapsular stabilisation to treat cranial cruciate ligament rupture. **Journal of Small Animal Practice** 64 (10): 619-625.

Settle S, Vickery L, Nemirovskiy O, Vidmar T, Bendele A, Messing D, Ruminski P, Schnute M, Sunyer T (2010) Cartilage degradation biomarkers predict efficacy of a novel, highly selective matrix metalloproteinase 13 inhibitor in a dog model of osteoarthritis: confirmation by multivariate analysis that modulation of type ii collagen and aggrecan degradation pepti. **Arthritis & Rheumatism** 62(10):3006-3015.

Shafieian R, Matin MM, Rahpeyma A, Fazel A, Sedigh HS, Nabavi AS, Hassabzadeh A, Ebrahimzadeh-Bideskan A (2017) Effects of Human Adipose-derived Stem Cells and Platelet-Rich Plasma on Healing Response of Canine Alveolar Surgical Bone Defects. **Archives of Bone and Joint Surgery** 5(6):406-418.

Shimada M, Mizokami N, Ichinohe T, Kanno N, Suzuki S, Yogo T, Harada Y, Hara Y (2020a) Long-term outcome and progression of osteoarthritis in uncomplicated cases of cranial cruciate ligament rupture treated by tibial plateau leveling osteotomy in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science** 82(7):908-916.

Shimada M, Takagi T, Kanno N, Yamakawa S, Fujie H, Ichinohe T, Suzuki S, Harada Y, Hara Y (2020b) Biomechanical Effects of Tibial Plateau Levelling Osteotomy on Joint Instability in Normal Canine Stifles: an in vitro study. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology** 33 (5): 301-307.

Slocum B, Slocum TD (1993) Tibial plateau leveling osteotomy for repair of cranial cruciate ligament rupture in the canine. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 23(4):777-795.

Song H, Zhao J, Cheng J, Feng Z, Wang J, Momtazi-Borojeni AA, Liang Y (2021) Extracellular Vesicles in chondrogenesis and Cartilage regeneration. **Journal of Cellular and Molecular Medicine** 25(11):4883-4892.

Soto N, Fauber AE, Ko JCH, Moore GE, Lambrechts NE (2014) Analgesic effect of intra-articularly administered morphine, dexmedetomidine, or a morphine-dexmedetomidine combination immediately following stifle joint surgery in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 244(11):1291-1297.

Spinella G, Arcamone G, Valentini S (2021) Cranial Cruciate Ligament Rupture in Dogs: review on biomechanics, etiopathogenetic factors and rehabilitation. **Veterinary Sciences** 8(9):1-22.

Taroni M, Cabon Q, Fèbre M, Cachon T, Saulnier N, Carozzo C, Maddens S, Labadie F, Robert C, Viguier E (2017) Evaluation of the Effect of a Single Intra-articular Injection of Allogeneic Neonatal Mesenchymal Stromal Cells Compared to Oral Non-Steroidal Anti-inflammatory Treatment on the Postoperative Musculoskeletal Status and Gait of Dogs over a 6-Month Period after Tibial Plateau Leveling Osteotomy: a pilot study. **Frontiers In Veterinary Science** 4(8):83.

Tieu A, Lalu MM, Slobodian M, Gnyra C, Fergusson DA, Montroy J, Burger D, Stewart DJ, Allan DS (2020) An Analysis of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles for Preclinical Use. **ACS Nano** 14(8):9728-9743.

Tinga S, Kim SE, Banks SA, Jones SC, Park BH, Burtch M, Pozzi A, Lewis DD (2020) Femorotibial kinematics in dogs treated with tibial plateau leveling osteotomy for cranial cruciate ligament insufficiency: an in vivo fluoroscopic analysis during walking. **Veterinary Surgery** 49(1):187-199.

Velot É, Madry H, Venkatesan JK, Bianchi A, Cucchiaroni M (2021) Is Extracellular Vesicle-Based Therapy the Next Answer for Cartilage Regeneration? **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology** 9(645039):1-11.

Villatoro AS, Langenbach A, Yoon J, Garcia TC, Marcellin-Little DJ (2023) Stifle joint osteoarthritis in small-breed and medium-breed dogs is more severe after cranial cruciate ligament injury than medial patellar luxation. **Veterinary Radiology & Ultrasound** 64(3):385-392.

Volz F, Eberle D, Kornmayer M, Zablotski Y, Meyer-Lindenberg A (2024) Effect of intra-articular platelet-rich plasma or hyaluronic acid on limb function recovery in dogs with TPLO for cranial cruciate ligament rupture: a randomised controlled trial. **Journal Of Small Animal Practice** 65(4):223-233.

Wemmers AC, Charalambous M, Harms O, Volk HA (2022) Surgical treatment of cranial cruciate ligament disease in dogs using Tibial Plateau Leveling Osteotomy or Tibial Tuberosity Advancement—A systematic review with a meta-analytic approach. **Frontiers in Veterinary Science** 9(30):1004637.

Wilson ML, Roush JK, Renberg WC (2018) Comparison of the Effect of Dog, Surgeon and Surgical Procedure Variables on Improvement in Eight-Week Static Weight-Bearing following Tibial Plateau Levelling Osteotomy. **Veterinary Comparative Orthopaedics and Traumatology** 31(6):396-404.

Yu H, Cheng J, Shi W, Ren B, Zhao F, Shi Y, Yang P, Duan X, Zhang J, Fu X (2020) Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes promote tendon regeneration by facilitating the proliferation and migration of endogenous tendon stem/progenitor cells. **Acta Biomaterialia** 106(1):328-341.