

Marina Landim e Alvarenga

Uso de células- tronco para o tratamento de tendinite em eqüinos

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de médico veterinário

Preceptor: Prof. Adj. Marco Antonio Alvarenga

Botucatu
2011

Marina Landim e Alvarenga

Uso de células- tronco para o tratamento de tendinite em eqüinos

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de médico veterinário

Área de Concentração: Cirurgia de Equinos

Preceptor: Prof. Adj. Marco Antonio Alvarenga

Coordenador de Estágios: Prof^a. Titular Jane Megid

Botucatu
2011

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TEC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECARIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Alvarenga, Marina Landim.

Uso de células-tronco para o tratamento de tendinites em equinos /
Marina Landim e Alvarenga. – Botucatu : [s.n], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado – Medicina Veterinária)
- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia

Orientador: Marco Antonio Alvarenga

Capes: 50501003

1. Equino. 2. Células-tronco. 3. Cirurgia veterinária.

Palavras-chave: Células-Tronco; Equinos; Tendinites.

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Aos meus avós, Carminda da Cruz Landim e Paulo Milton Barbosa Landim por serem os patriarcas desta família maravilhosa de unespianos da qual tenho o orgulho de fazer parte. Sou eternamente grata por todas as oportunidades e ensinamentos que vocês me proporcionaram desde pequena.

Aos meus pais, Fernanda da Cruz Landim e Marco Antonio Alvarenga que me deram a melhor família do mundo, e que hoje, apesar de separados, juntos ainda apóiam e incentivam as minhas decisões e sonhos, me guiando pelos obstáculos encontrados no caminho.

Ao João Gabriel Thomaz Queluz, a pessoa mais importante da minha vida nestes últimos anos, por ter estado sempre ao meu lado nos momentos difíceis, pelo carinho e risadas e principalmente por me fazer muito feliz todos os dias.

Aos cães Bibica, Gilda, Rodolfo, Rebeca, Beth, Catarina, Asdrubal, Carlota, Isabel e Jack, aos equinos Conhaque, Navarone e Paloma, as calopsitas Shirley e Gordinha, por desde sempre terem reforçado a paixão que tenho pela Medicina Veterinária.

Agradecimentos

Agradeço:

A UNESP por ter sido para mim um berço, onde nasci, cresci e estou me formando com muito orgulho e gratidão.

A todos os professores e funcionários do Campus de Botucatu pelo tempo e conhecimento os quais nos foram cedidos.

Principalmente as professoras Ana Liz Garcia Alves e Maria Denise Lopes, minhas orientadoras de iniciação científica, pela paciência, tempo e dedicação.

Em todas as coisas da natureza

Existe algo de maravilhoso

Aristóteles
(384- 322 a.c)

ALVARENGA, MARINA LANDIM. *Uso de células- tronco para o tratamento de tendinites em eqüinos*. Botucatu, 2011. 14p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Cirurgia de Grandes Animais)
– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Resumo

O Brasil tem o quarto maior rebanho equino do mundo, isto se deve ao reconhecimento e apreciação que as diferentes modalidades esportivas eqüestres então tendo dentro do país. Lesões no tendão, especialmente no tendão flexor digital, são a principal causa da redução da vida útil de eqüinos atletas, podendo resultar até mesmo no encerramento da carreira atlética do animal. O tratamento de tendinites em eqüinos visa à recuperação de tecidos lesados restabelecendo a função previamente perdida, sendo que os tratamentos convencionais têm se mostrado ineficientes quando levamos em consideração a qualidade do tecido cicatricial e a taxa de recidiva da lesão após a retomada da atividade esportiva. Devido a isto, a utilização de células tronco adultas no tratamento de lesões do sistema músculo-esquelético de eqüinos já vem sendo pesquisada há algum tempo. Esse método de tratamento consiste obtenção de células pela punção aspirativa da medula óssea ou de retirada de gordura do subcutâneo e implante destas no tecido lesado. A partir da obtenção da medula óssea, pode se realizar o implante de medula óssea total, da fração mononuclear ou das CTM cultivadas in vitro, no tratamento de tendinites ou desmites. A partir do tecido adiposo é utilizada uma mistura de células derivadas da fração vascular estromal, obtida por digestão por collagenase, com ou sem realização do cultivo celular. Segundo alguns estudos, a terapia celular com implante de material obtido da medula óssea ou tecido adiposo, têm se mostrado viável, tendo em vista que estes materiais são abundantes em componentes da reparação como células-tronco mesenquimais (CTM), fatores de crescimento e outros componentes da matriz colágena. Diversos estudos utilizando ambos os tipos celulares vêm apresentando grande potencial e resultados clínicos promissores. Contudo, o conhecimento da biologia celular e a caracterização destas células ainda permanecem largamente desconhecido, sendo, portanto, necessário muito critério e cuidado na utilização da terapia celular para o tratamento das lesões músculo- esqueléticas dos eqüinos.

Palavras chave: eqüinos, tendinite, células- tronco

ALVARENGA, MARINA LANDIM. *Use of stem cells in the treatment of equine tendinitis*. Botucatu, 2011. 14p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Cirurgia de Grandes Animais)
– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Abstract

Brazil has the fourth largest horse herd in the world, this is due the recognition and appreciation that the different equestrian games are having within the country. Injuries of the tendon, especially in the digital flexor tendon, are the main cause of athletic life reduction among horses. The treatment of tendinitis in horses seeks full recovery of the damage tissue reestablishing the function previously lost, however conventional treatments have proven to be ineffective when considered the quality of the scar tissue and the rate of recurrence. Due to this, the use of adult stem cells to the treatment of musculoskeletal injuries of horses has been studied for some time. This method of treatment consists of aspiration of bone marrow or removal of subcutaneous fat tissue and implantation of these cells in the injured tissue. After obtaining the bone marrow the implantation can be performed with total bone marrow, with the mononuclear fraction of MSC or with cells cultured *in vitro*. From the fat tissue is used the stromal vascular fraction obtained by collagenase digestion, followed or not by cell culture. According to some studies, cell therapy with material obtained from bone marrow or adipose tissue has shown to be viable, given that these materials are abundant in repair components such as mesenchymal stem cells (MSC), growth factors and other components of the collagen matrix. Several studies using both types of cells have shown great potential and promising clinical results. However, knowledge of the biology and characterization of these cells remain largely unknown, and therefore is needed great care and caution when using stem cells for the treatment of musculoskeletal disorders in horses.

Key words: horses, tendinitis, stem cells

Sumário

<u>1.</u>	<u>Introdução</u>	1
<u>2.</u>	<u>Revisão de Literatura</u>	2
<u>2.1.</u>	<u>Estrutura Tendínea</u>	2
<u>2.2.</u>	<u>Tendinite</u>	2
<u>2.3.</u>	<u>Célula Tronco</u>	5
<u>2.4.</u>	<u>Terapia com Células- tronco</u>	6
<u>3.</u>	<u>Considerações Finais</u>	11
<u>4.</u>	<u>Referências bibliográficas</u>	12

1. Introdução

O Brasil tem o quarto maior rebanho equino do mundo, com 5,8 milhões de cabeças, ficando atrás dos Estados Unidos, China e México. O agronegócio do cavalo gera 642,5 mil empregos diretos e 2,6 milhões de empregos indiretos, e seu faturamento anual é de, em média, R\$ 7,5 bilhões, sendo que as exportações desta atividade em 2009 totalizaram US\$ 27,4 milhões (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2010). O crescimento do mercado do cavalo dentro do Brasil se deve, principalmente, ao reconhecimento e apreciação que as diferentes modalidades esportivas eqüestres então tendo nos últimos tempos.

As lesões do sistema músculo-esquelético, principalmente as tendinites, são muito freqüentes em eqüinos, especialmente nos animais atletas. Estas lesões resultam na redução da vida útil ou até mesmo no encerramento da carreira atlética do animal, uma vez que a recuperação é dependente de um longo período de repouso e mesmo com o tratamento adequado a taxa de recidiva pode ser muito alta, chegando a mais de 43% (Nixon et al, 2008).

Este fato ocorre devido à estrutura do tendão, a qual possui mínima vascularização, células com atividade mitótica reduzida e presença de poucas células progenitoras; resultando em um processo de cicatrização lento, que na maioria dos casos, leva a formação de uma matriz extracelular de qualidade biomecânica inferior (Carvalho et al, 2011).

Desta maneira, a busca por um tratamento ideal para as tendinites é constante. Os modelos tradicionais de tratamento, seja ele conservativo ou cirúrgico, visam diminuir a inflamação dentro do tendão, prevenir aumento da lesão e estimular o processo de cicatrização. Contudo, estes tratamentos têm sido ineficientes quando levamos em consideração a qualidade do tecido cicatricial e a taxa de recidiva da lesão após a retomada da atividade esportiva. Devido a isto, recentemente a sociedade científica vem testando o implante de células- tronco como tratamento de

estruturas tendo-ligamentosas, a fim de melhorar a arquitetura e constituição do tecido cicatricial, visando a produção de uma qualidade tecidual superior e o mais próxima do normal possível. Esse método tem-se mostrado viável e os resultados promissores.

2. Revisão de Literatura

2.1 Estrutura Tendínea

O tendão é uma faixa espessa de tecido conjuntivo fibroso, de baixa celularidade que atua ligando o músculo ao osso. Os tendões dos mamíferos são constituídos de unidades arranjadas longitudinalmente denominadas fascículos, os quais são compostos por fibrilas de colágeno com uma matriz de proteoglicanos, glicoproteínas, fibras elásticas, íons e água.

As fibrilas de colágeno são estruturas cilíndricas compostas principalmente por moléculas de colágeno tipo I, que seguem uma forma ondulada, plana ao longo do eixo longitudinal do tendão denominada *crimp*, sendo unidades fundamentais para a resistência à tração a qual um tendão é submetido (Stashak, 2006).

2.2 Tendinite

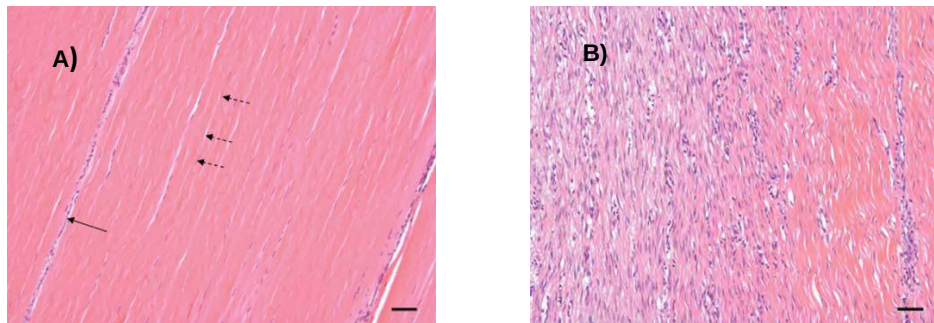
Lesões no tendão, especialmente no tendão flexor digital, são a principal causa da redução da vida útil de eqüinos atletas. A região central da porção metacárpica média do tendão flexor digital superficial (TFDS) do membro anterior é a mais afetada (Ross & Dyson, 2003).



Figura 1: Região central da porção metacárpica média do TFDS, destacada por um círculo vermelho.

Os tendões possuem grande resistência a tração e têm baixa extensibilidade, de forma que um equino atleta trabalha no seu limite durante atividades físicas intensas. Sugere-se que o exercício causa microtraumas na região central do tendão flexor digital superficial, acelerando a perda do padrão *crimp* das fibrilas que ocorreria normalmente ao longo da vida do animal. Portanto, o acúmulo de microtraumas enfraquece o tendão, podendo resultar em ruptura parcial ou completa (Stashak, 2006).

Quando lesionado, o tecido de reparação é menos organizado e mais fraco que o do tendão sadio, causando queda no desempenho do animal e sendo muito propício a ser lesado novamente. Essa diferença de qualidade se deve a composição de matriz dos dois tecidos. A cicatriz formada apresenta fibras que contêm muito mais colágeno tipo III, do que as fibras do tendão normal (1% de colágeno tipo III no tendão normal, comparado com 20-30% na cicatriz) (Williams et al, 1980). As fibras de colágeno tipo III possuem menor diâmetro e são mais elásticas, contudo, suportam menor tensão, o que explica a queda da qualidade do tendão e as recidivas de tendinite.



Richardson et al, 2007

Figura 2: A) Corte longitudinal de tendão flexor digital superficial saudável, demonstrando o arranjo longitudinal dos tenócitos (setas pontilhadas) e tecido interfascicular (seta cheia); B) Tecido cicatricial após quatro meses da lesão, demonstrando a desorganização da matriz celular e aumento da celularidade e vascularização. Escala= 100μm

O tratamento da tendinite do TFDS pode ser extremamente frustrante pela dificuldade em restaurar a estrutura e funções tendíneas anteriores a lesão. Muitos tratamentos convencionais têm tentado proporcionar o restabelecimento da funcionalidade do tendão lesado, porém há poucas evidências de que estes sejam mais eficientes do que longos períodos de repouso com exercícios controlados (Smith, 2004). Portanto, devido à ineficiência dos tratamentos convencionais (antiinflamatórios não esteróides sistêmicos, frio local, terapia do quente e frio, massagens, laser e ultrassom terapêutico) a utilização de terapia celular com células tronco adultas no tratamento de lesões do sistema músculo-esquelético de eqüinos já vem sendo pesquisada há algum tempo. Esse método de tratamento consiste na punção aspirativa da medula óssea (Barreira et al, 2008), e/ ou de retirada de gordura do subcutâneo (Fortier & Smith, 2008), seguida do isolamento e cultivo ou não das células presentes nesses meios, associada ao implante dessas células no tecido lesado.

2.3 Célula Tronco

As células-tronco (CT) podem ser definidas como células com grande capacidade de proliferação e auto-renovação, além da capacidade de responder a estímulos externos e dar origem a diferentes linhagens celulares mais especializadas. Estas células podem ser classificadas quanto seu grau de potencialidade como totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes, e quanto a sua origem como embrionárias (CTE) ou adultas (CTA) (Zago & Covas, 2006; Migroni-Netto & Dessen, 2006).

As CTE são derivadas do blastocisto e são consideradas pluripotentes, ou seja, apresentam a capacidade de originar mais de 250 tipos diferentes de linhagens celulares. Contudo, este tipo celular possui as desvantagens de ter origem alogênica e estar associado com a formação de teratomas, limitando, assim, o seu uso clínico atualmente (Maia et al., 2009).

Já as CTA ou somáticas são responsáveis pelo reabastecimento tecidual ao longo da vida e estão presentes na maioria dos tecidos, tais como, pele, fígado, coração, cérebro, medula óssea, sangue do cordão umbilical e placenta. As CTA têm potencial limitado, sendo capazes apenas de produzir variedades celulares dentro de sua própria linhagem (exemplo: hematopoiéticas e mesenquimais) (Maia et al., 2009).

As células hematopoiéticas dão origem a todos os tipos de células do sangue e atualmente são utilizadas nos tratamentos de doenças hematológicas através do transplante de medula óssea (Goodship, 2004).

As células- tronco mesenquimais (CTMs) são células adultas indiferenciadas de origem mesodermal que podem ser isoladas de diferentes tecidos, sendo os locais de escolha para o uso clínico a medula óssea e o tecido adiposo. As CTMs são aderentes ao plástico, expressam os marcadores de superfície CD44, CD73, CD90 e CD105, entre outros, e não expressam CD45, CD34, CD14 (CD11b), CD79 (CD19) e HLA- DR

(Koch et al, 2009). Em condições específicas elas podem dar origem às células do tecido muscular, adiposo, cartilaginoso e tendíneo.

2.4. Terapia com células- tronco

O transplante de células- tronco mesenquimais autólogas em um número muito maior do que o presente normalmente no tecido tendíneo, tem se mostrado capaz de promover a regeneração e reparação do tendão lesionado. Contudo, é importante ressaltar que ainda é necessária a realização de estudos para entendermos melhor a maneira como essas células atuam no local de lesão. Atualmente há duas teorias que explicariam este potencial: as células implantadas se diferenciam em células capazes de sintetizar matriz tendínea; ou as células secretariam fatores que induziriam as células adjacentes (implantadas ou residentes) a sintetizar matriz tendínea (Richardson et al, 2007).

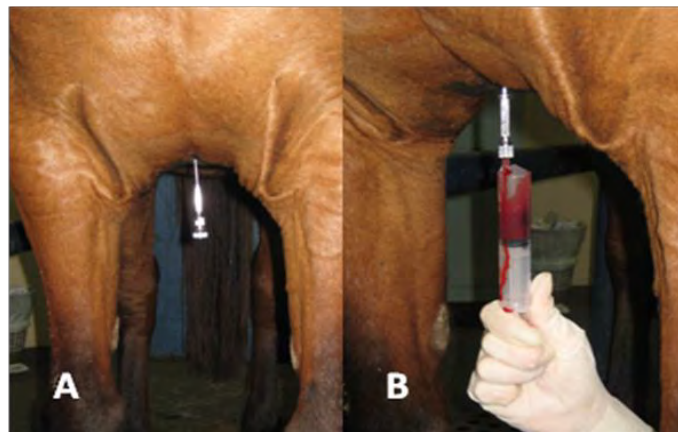
Apesar disto, a terapia celular vem sendo usada para o tratamento de tendinites visando à recuperação de tecidos lesionados restabelecendo a função previamente perdida. Em equinos, a grande maioria de células-tronco utilizadas para o tratamento de tendinites é de origem adiposa ou de medula óssea, entretanto outras fontes de células mesenquimais, como os tecidos fetais (Lovati et al., 2010), tem sido recentemente descritas, mas ainda com pequeno destaque na aplicação clínica. Estas células podem ser usadas clinicamente de várias maneiras, cada uma delas apresentando suas vantagens e desvantagens.

- **Células-tronco provenientes da medula óssea**

A coleta da medula óssea pode ser realizada na região esternal ou na crista ilíaca, sendo que as células podem ser utilizadas de três maneiras distintas.

A primeira técnica consiste na injeção do aspirado de medula óssea total no local da lesão. As vantagens desta técnica são a sua simplicidade, a possibilidade de realizar o procedimento imediatamente

após o diagnóstico e o seu custo relativamente baixo. Todavia, há certa restrição no uso direto do aspirado de medula óssea total em tendões, uma vez que possui potencial de mineralização. Além disto, a principal desvantagem seria a pequena quantidade de células presente no aspirado medula, apresentando apenas 0,001% a 0,01% de população de células mononucleares (Fortier & Smith, 2008).



Arquivo pessoal

Figura 3: Imagem da punção do esterno (A) e aspiração do sangue da medula óssea (B).

Herthel, 2001, comparou os resultados de tratamentos de lesão do ligamento suspensório do boleto de eqüinos por tratamento convencional ou com injeção de punção de medula óssea. Este autor observou que 84,8% dos indivíduos que não foram tratados com células-tronco não se recuperaram, ou voltaram a apresentar lesão, e 84% dos animais tratados com células-tronco voltaram a trabalhar normalmente dentro de 6 meses.

A segunda técnica consiste na centrifugação do aspirado medular, com o objetivo de separar a fração mononuclear e desta forma aumentar a quantidade de células mesenquimais presente em cada aplicação. Esta técnica também possui a vantagem de poder ser utilizada logo no momento do diagnóstico, contudo permanece a desvantagem do pequeno número de células recuperadas para a implantação (Fortier & Smith, 2008).

Lacitignola et al, 2008 utilizaram a fração mononuclear no tratamento de tendinites e desmites em equinos. Vinte cavalos foram utilizados (8 cavalos de trote e 12 cavalos de salto), 14 animais apresentavam tendinite do TFDS e 6 apresentavam desmite do ligamento suspensor do boleto. Após a aplicação não foram observados sinais de inflamação. Passadas 3 semanas do tratamento não notou-se dor a palpação no local da lesão e com 6 semanas pós tratamento não foi observada claudicação. Sendo que a imagem ultrassonografica das lesões começou a ter melhora a partir da 3ª semana pós aplicação. Os resultados demonstraram que 60% dos pacientes retornaram a atividade física e os outros 40% permaneceram sob regime de exercício controlado. Sendo a taxa de recidiva de 35%.

A terceira técnica consiste na cultura das células por um período de 2 a 3 semanas para que estas se multipliquem em um número maior que 10×10^6 . Este método visa a purificação da população celular obtida após a centrifugação, uma vez que somente as células mesenquimais, presentes na fração mononuclear tem a capacidade de aderir ao plástico e sobreviver durante o período de cultivo. O implante destas células é então realizado no local de lesão. Para tal, as células são ressuspensas em um sobrenadante de medula óssea, substância esta rica em fatores de crescimento. Esta técnica é a mais utilizada atualmente e a sua vantagem seria a implantação de um número maior e mais puro de células-tronco. Contudo, as desvantagens são o tempo transcorrido entre o momento da aspiração e o momento da implantação e o elevado custo (Fortier & Smith, 2008).

Smith et al, 2003, relataram pela primeira vez o uso de células-tronco autólogas cultivadas derivadas da medula óssea para o tratamento de tendinite não induzida do TFDS. Este trabalho demonstrou a viabilidade do uso clínico de células cultivadas, e mais importante do que isto, relatou que não houve qualquer reação adversa a este tratamento com 10 dias e 6 semanas pós implante. Contudo, o tratamento foi

realizado em um único animal de 11 anos, o qual apresentava lesão do TFDS há 5 semanas; e os resultados obtidos mostraram uma melhora mínima da imagem ultrassonografica (redução de 0,5% da lesão com 10 dias e 5% com 6 semanas).

Segundo Richarson et al (2007), mais de 400 cavalos já foram tratados com esta técnica. Após mais de 1 ano de acompanhamento dos animais que retornaram a um nível intenso de treinamento, constatou-se que 18% tiveram recidiva da lesão, o que é favorável quando comparamos com a taxa de 56% de recidiva obtida com tratamento convencional.

Pacini et al, 2007 relataram que 9 de 11 cavalos de corrida com tendinite não induzida do TFDS tratados com células mesenquimais cultivadas retornaram as pistas e continuaram a correr mesmo 2 anos após o tratamento. Sendo que todos os 15 animais controle tiveram recidiva da lesão após 4 a 12 meses.

- **. Células-tronco provenientes de tecido adiposo**

O tecido adiposo vem se tornando uma alternativa promissora para a obtenção de células-tronco para o tratamento de lesões tendíneas e ligamentares, tendo a vantagem de possuir uma maior concentração de células mesenquimais do que a medula óssea (2% comparado com 0,002%) e ter uma taxa de proliferação *in vitro* superior a das células derivadas de medula (Dahlgren, 2009). Para a obtenção das células o tecido adiposo subcutâneo é colhido da região supragluteal ou da base da cauda com o auxílio de pinça e bisturi. O fragmento de tecido é então submetido à digestão por colagenase a fim de se obter a fração vascular estromal na qual as células- tronco estão contidas (Maia et al., 2009).

Atualmente a técnica mais aplicada é a utilização de uma mistura de células derivadas da fração vascular estromal do tecido adiposo sem realização do cultivo. Esta técnica tem a vantagem de isolar um grande número de células em um curto período (48 horas). Contudo, a

quantidade de células-tronco mesenquimais é indeterminada (Fortier & Smith, 2008).

A fração vascular estromal é constituída por uma população heterogênea de células, a qual inclui células endoteliais e epidermais, pré adipocitos e algumas células progenitoras. Estas células progenitoras são as células- tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo, as quais tem demonstrado possuir um potencial de diferenciação semelhante ao das células derivadas da medula óssea (Carvalho, et al, 2011).

Mais de 1000 equinos já foram tratados com células- tronco derivadas de tecido adiposo processadas comercialmente. Um total de 78% dos animais de esporte retornaram ao mesmo nível de performance que possuíam antes da lesão e 69% dos animais de corrida voltaram a raia por mais de uma vez (Dahlgren, 2009).

Leppänen, et al, realizaram o tratamento de 58 equinos com tendinite ou desmíte não induzidas utilizando suspensão de células-tronco cultivadas derivadas do tecido adiposo. O processo de cicatrização foi acompanhado por exame ultrassonográfico com 1, 3 e 6 meses após o tratamento e aos 12 meses foi realizado um acompanhamento por telefone dos animais. Observou-se uma melhora na imagem ultrassonografica desde o primeiro mês de acompanhamento. Uma taxa de 50% de recuperação foi atingida com 8 meses pós tratamento; e após 1 ano do tratamento 85% dos animais recuperados voltaram a competir e 12,1% tiveram recidiva da lesão.

Nixon, et al, induziram tendinite do TFDS do membro anterior de 8 cavalos. Quatro foram tratados com implante da fração vascular estromal derivada de tecido adiposo autólogo, e quatro foram submetidos a aplicação de solução de PBS no local da lesão (grupo controle). A cicatrização foi acompanhada semanalmente por avaliação ultrassonografica, demonstrando que não houve diferença significativa entre tempo e qualidade de reparação nos dois grupos. Os animais foram eutanasiados após 6 semanas do tratamento para a realização da

avaliação histológica da estrutura tendinea, incluindo alinhamento das fibras e tipo de colágeno presente na arquitetura tendinea. Foram realizadas, também, a análise biomécanica e molecular do colágeno, DNA, proteoglicanas e expressão gênica de colágeno tipo I e III, proteína de matriz cartilagem oligomérica (COMP) e fator de crescimento tipo insulina-I. Sendo que no grupo tratado, a avaliação histopatológica revelou uma melhora significativa na arquitetura das fibras, com melhor densidade e alinhamento; e redução da vascularização, infiltrado de células inflamatórias e formação de colágeno tipo III. As áreas de cicatrização não diferiram quanto ao conteúdo de DNA, proteoglicanas ou quantidade total de colágeno. A expressão gênica de colágeno tipo I e III foi similar nos dois grupos e a expressão de COMP foi significativamente superior nos animais tratados. Os autores concluíram que o tratamento com a fração vascular estromal proveniente de tecido adiposo propiciou uma melhora significativa na arquitetura do tendão durante o processo de cicatrização.

3. Considerações Finais

O uso das células-tronco dentro da terapia regenerativa tem mostrado grande potencial e resultados clínicos promissores. Contudo, ainda é necessária a realização de estudos clínicos bem definidos e controlados para que esta técnica possa ser incluída com segurança dentro dos tratamentos instituídos para as lesões músculo- esqueléticas dos eqüinos, assim como de qualquer outra espécie.

Apesar da grande quantidade de estudos feitos e sendo realizados com células-tronco, o conhecimento da biologia celular e a caracterização destas células ainda permanece largamente desconhecido. É de particular importância o estudo dos mecanismos através dos quais as células-tronco transferidas são capazes de orquestrar os mecanismos de reparação tecidual, seja por diferenciação nos tipos celulares lesados ou

por alteração do microambiente e remodelamento das células endógenas. Dessa forma, atualmente o uso da terapia celular deve ser realizado com muito critério e cuidado, e todos os resultados (sejam eles favoráveis ou não) devem ser divulgados.

4. Referências bibliográficas

BARREIRA, A.P.B., ALVES, A.L.G., SAITO, M., AMORIM, R.L., KOHAYAGAWA, A., MENARIM, B.C., MOTA, L.S., Autologous implant of bone marrow mononuclear cells as treatment of induced equine tendinitis. **Intern J Appl Res Vet Med**. Vol. 6, p. 46-54, 2008.

CARVALHO, A. M., ALVES, A. L. G., OLIVEIRA, P. G. G., ÁLVAREZ, L. E. C., AMORIM, R. L., HUSSNI, C. A., DEFFUNE, E. Use of adipose tissue- derived mesenchymal stem cells for experimental tendinitis therapy in equine. **Jornal of Equine Vet. Science**. p. 26- 34, 2011.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, disponível em: <http://www.cfmv.org.br/portal/noticia.php?cod=606> Data de acesso: 11/07/2011.

DAHLGREN, L.A., Fat- derived mesenchymal stem cells for equine tendon repair. **Regen. Med**. Vol. 4 (2), p. 14, 2009.

FORTIER, L.A., SMITH, R.K., Regenerative medicine for tendinous and ligamentous injuries of sport horses. **Vet Clin North Am Equine Pract**. 24, 191-201, 2008.

GOODSHIP, A., An introduction to the state of stemcell therapy in clinical orthopaedics. **Proc. 12th ESVOT Congress, Munich.**, p. 172- 174, 2004

HERTHEL, D.J. Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cells and other bone marrow components. **Proc. AAEP**. v.47, p. 319-321, 2001.

KOCH, T.G., BERG, L.C., BETTS, D.H., Current and future regenerative medicine- Principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine. **Can Vet J.** vol.50, p. 155- 165, 2009.

LACITIGNOLA, L., CROVACE. A., ROSSI, G., FRANCIOSO, E., Cell therapy for tendinitis, experimental and clinical report. **Vet Res Commun.** Vol. 32 (1), p.33-38, 2008.

LEPPÄNEN, M., MIETTINEN, S., MÄKINEN, S., WILPOLA, P., KATISKALAHTI, T., HEIKKILÄ, P., TULAMO, R. M., Management of equine tendon e ligament injuries with expanded autologous adipose- derived mesenchymal stem cells: a clinical study. **Regen. Med.** Vol. 4 (2), p. 21, 2009.

LOVATI, A.B., CORRADETTI, B., CONSIGLIO, A.L., RECORDATI, C., BONACINA, E., BIZZARO, D., CREMONESI, F. Comparison of equine bone marrow, umbilical cord, and amniotic fluid- derived progenitor cells. **Vet. Res. Commun.**, v.35, p.103-121, 2010.

MAIA, L., AMORIM, R. M., LANDIM-ALVARENGA, F. C., LIMA NETO, J. F., ALVARENGA, M. L., WODEWOTZKY, T. I. Considerações sobre o uso de células- tronco mesenquimais em medicina eqüina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária Equina**, ano 5, nº 25, p. 10- 15, Set/ Out, 2009.

MINGRONI-NETTO, R.C., DESSEN, E.M.B. Células-tronco: o que são e o que serão? **Genét. Esc.**, v.1, p. 12-15, 2006.

NIXON, A. J., DAHLGREN, L. A., HAUPT, J. L., YEAGER, A. E., WARD, D. L., Effect of adipose-derived nucleated cell fractions on tendon repair in horses with collagenase-induced tendinitis. **AJVR.** Vol. 69 (7), p. 928- 937, 2008.

PACINI, S., SPINABELLA, S., TROMBI, L., FAZZI, R., GALIMBERTI, S., DINI, F., CARLUCCI, F., PETRINI, M., Suspension of bone marrow derived undifferentiated mesenchymal stromal cells for repair of superficial digital flexor tendon in race horses. **Tissue engineering.** Vol. 13 (12), p. 2949- 2955, 2007.

RICHARDSON, L., DUDHIA, J., CLEGG. P. D., SMITH, R.K.W., Stem cells in veterinary medicine- attempts at regenerating equine tendon after injury. **Trends Biothechnol.** Vol. 25 (9), p. 409- 416, 2007.

ROSS, M. W. & DYSON, S. J., **Diagnosis and management of lameness in the horse.** St. Louis: Saunders, 2003, 1140 p.

SMITH, R. K. W., KORDA, M., BLUNN, G. W., GOODSHIP, A. E., Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment. **Equine Veterinary Journal.** Vol. 35 (1), p. 99- 102, 2003.

SMITH, R.K.W. Stem cell therapy for tendon and ligament injuries- Clinical results. **Proc. 12th ESVOT Congress, Munich.**, p. 187-188, 2004.

STASHAK, T. S., **Claudicação em equinos segundo Adams**, 5ª edição, São Paulo: Editora Roca Ltda., 2006, 1093p.

WILLIAMS, I.F., HEATON, A., MCCULLAGH, K.G. Cell morphology and collagen types in equine tendon scar, **Res. Vet. Sci.**, v. 28, p. 302-310, 1980.

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