RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/04/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (FMVZ)
CAMPUS DE BOTUCATU

PRÉ-CONDICIONAMENTO DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES CANINAS COM SORO E LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE CÃES ACOMETIDOS POR CINOMOSE

RAFAELLA BRANCALHÃO DA SILVA

Botucatu
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (FMVZ)
CAMPUS DE BOTUCATU

Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Dissertação de Mestrado em Medicina Translacional e Biologia Molecular apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp Botucatu como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Botucatu
2025

S586p

Silva, Rafaella Brancalhão da

Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose. / Rafaella Brancalhão da Silva. -- Botucatu, 2025

74 p.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Rogério Martins Amorim

1. células-tronco. 2. Leucoencefalite desmielinizantes. 3. Cinomose. 4. Esclerose-múltipla. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Impacto potencial desta pesquisa

Título da Dissertação – Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose

Impacto científico esperado: Verificar qual pré-condicionamento sobre as AT-MSCs é a melhor estratégia de melhoramento não génetico para otimizar as funções parácrinas das mesmas, concomitante ao melhor entendimento de seu comportamento mediante ao microambiente análago de doenças desmielinizantes.

Impacto social: A confirmação da otimização das funções parácrinas vizando um efeito imunomodulador e neurorregenerativo, pode potencializar a terapia celular in vivo auxiliando na recuperação dos animais acometidos.

Impacto econômico: Ao determinar o aumento dos efeitos das AT-MSCs condicionadas, poderão reavaliar os protocolos realizados in vivo reduzindo assim gastos, além de apontar a possibilidade da utilização do secretoma e das vésiculas extracelulares como alternativa de tratamento.

Potential impact of this research

Dissertation Title – Use of multipotent mesenchymal stromal cells in the treatment of encephalomyelitis caused by the distemper virus in dogs.

Expected Scientific Impact: To verify which preconditioning of AT-MSCs is the best non-genetic improvement strategy to improve their paracrine functions, concomitantly with a better understanding of their behavior in the microenvironment analysis of demyelinating diseases.

Social Impact: Confirmation of the optimization of paracrine functions, visualizing an immunomodulatory and neuroregenerative effect, can enhance in vivo cell therapy, aiding in the recovery of affected animals.

Economic Impact: By determining the increase in the effects of conditioned AT-MSCs, it will be possible to reevaluate the protocols performed in vivo, thus saving costs, in addition to indicating the possibility of using the secretory and extracellular vesicles as an alternative treatment.

Composição da Banca Examinadora

TÍTULO: Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose

COMISSÃO EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu, SP.

_____

Prof. Dra. Bruna Pereira de Morais
Instituto de Ciência Biológicas da USP, São Paulo, SP.

_____

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso
Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu, SP.

Data de Defesa: 25 Abril de 2025

Agradecimentos

Ao meu orientador, prof. Rogério Martins Amorim, pela confiança em me acolher em sua equipe e por compartilhar seus preciosos ensinamentos e orientações. Sou profundamente grata por sua paciência, empatia e compreensão em relação às limitações pessoais que enfrentei ao longo desta jornada. As oportunidades de crescimento a mim concedidas transcenderam os limites acadêmicos, ampliando minhas perspectivas e capacidades.

Aos meus colegas Lucas Vinícius de Oliveira, Thaís Tavares, Tiago Tourinho Pereira, Alisson Olbera, Fernanda Caroliny Cardoso, pelo apoio, ensinamentos e ajuda no qual foram extremamente importantes para execução desta pesquisa, vocês muitas vezes me abraçaram e me acolheram me fazendo ser persistente em minhas convicções, realizando tudo isso sem esperar nada em troca.

À minha família, pelo suporte constante e pelo incentivo inabalável durante todo o período do mestrado. Em especial, ao meu noivo, Juliano Henrique Munaretto Soares, e ao meu pai, Claudio Cunha da Silva, que, mesmo à distância e enfrentando desafios financeiros e emocionais, foram meu alicerce e inspiração.

Aos professores Paulo Fernandes Marcusso, Camila Michele Appolinário e Bruna Pereira de Morais por gentilmente aceitarem compor a banca examinadora de defesa, oferecendo sua expertise e orientação para me auxiliar na minha trajetória acadêmica.

À empresa Ourofino Animal pela generosa contribuição com materiais e produtos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Obrigada.

Lista de abreviações

ANOVA: Análise de Variância de Medidas Repetidas

APCs: Células Apresentadoras de Antígenos

BHE: Barreira Hematoencefálica

BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

CDV: Vírus da Cinomose Canina

CDV-DL: Leucoencefalite Desmielinizante

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DAMPs: Padrões Moleculares Associados a Danos

EM: Esclerose Múltipla

GDNF: Fator Neurotrófico Derivado de Células Gliais

GM-CSF: Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos

HGF: Fator de Crescimento Hepatocitário

IDO: Indoleamina-2, 3-Dioxigenase

IFN-γ: Interferon-Gama

IL-1: Interleucina-1

IL-1β: Interleucina-1 Beta

IL-6: Interleucina-6

IL-8: Interleucina-8

IL-10: Interleucina-10

IL-12: Interleucina-12

ISCT: International Society for Cellular Therapy

iNOS: Óxido Nítrico-Sintase Induzida

LCR: Líquido Cefalorraquidiano

MALT: Mucosas Associadas ao Tecido Linfoide

MHC: Antígenos do Complexo Principal de Histocompatibilidade de Classe II

MMPs: Metaloproteinases de Matriz

MSCs: Células Estromais Mesenquimatosas

OPCs: Células Progenitoras de Oligodendrócitos

PAMPs: Padrões Moleculares Associados a Patógenos

PGE2: Prostaglandina E2

qPCR: Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa

SNC: Sistema Nervoso Central

TGF-β: Fator de Crescimento Transformador Beta

TNF: Fator de Necrose Tumoral

Lista de tabelas

CAPÍTULO 2

TABLE 1. Main changes evidenced in blood count and cerebrospinal fluid analysis in selected animals.

TABLE 2. Primers screened by qPCR.

Lista de figuras

CAPÍTULO 1

FIGURA 1. Lesões histológicas de CDV-DL de acordo com o estágio de progressão da doença. Fonte: Lempp *et al*. (2014).

FIGURA 2. Esquema proposto das citocinas durante a imunopatologia da CDV-DL. **Fonte:** Spitzbarth, Baumgärtner e Beineke (2012).

FIGURA 3. Esquema proposto das citocinas durante a imunopatologia da CDV-DL crônica. **Fonte:** Spitzbarth, Baumgärtner e Beineke (2012).

FIGURA 4: Modelo de sensor e comutador de MSCs. **Legenda:** De acordo com o microambiente, ocorre a ativação de diferentes receptores TLRs e de receptores para TNF-α, IFN-γ e IL-1β, onde irão secretar citocinas para manter a homeostase. **Fonte**: Jiang *et al*. (2019).

FIGURA 5: Moduladores imunológicos expressados pela MSCs na condição de quiescência e na condição ativada. **Legenda:** As cores azul e verde indicam a função anti-inflamatória, e a cor vermelha indica a função pró-inflamatória. Todos os moduladores são regulados de acordo com os fatores pró-inflamatórios de forma dependente da concentração. **Fonte:** Jiang *et al.* (2019).

CAPÍTULO 2

FIGURE 1: Experimental design. **Legend**: AT-MSCs were thawed and prepared for plating. Subsequently, they were incubated until reaching 80% confluence and were preconditioned according to the six previously mentioned experimental groups for 72 hours. They were then prepared for the determination of TNF, BDNF, GDNF, HGF, IL-10, PTGES2, IFN-γ, and IDO expression levels.

FIGURE 2: Photomicrographs after differentiation into mesenchymal lineages.. **Legend:** A: Undifferentiated cells, 10x objective. B: Adipogenic

differentiation (20x) Oil Red staining. C: Chondrogenic differentiation (20x) Alcian Blue staining. D: Osteogenic differentiation (20x) Alizarin staining.

FIGURE 3: Photomicrographs during the 72-hour preconditioning period. **Legend:** 20x magnification. Scale bar, 100 µm.

FIGURE 4: Relative gene expression of BDNF, GDNF, HGF, IDO, IFN-γ, TNF-α, IL-10, and PTGES2 in the preconditioned groups. **Legend**: Statistical difference represented by:(*) represents $P < 0.005$; (**) represents $P < 0.0001$. Median, 1st quartile, and 3rd quartile values are shown.

FIGURE 5: Relative Gene Expression of BDNF, GDNF, HGF, IDO, IFN-γ, TNF-α, IL-10, and PTGES2 in Preconditioned Groups. **Legend:** Statistical difference represented by: (*) represents $p < 0.005$, (**) represents, $p < 0.0001$. Median values, 1st quartile, and 3rd quartile are represented.

FIGURE 6: Analysis of IL-8 and MCP-1 proteins using multiplex. **Legend:** Column chart representing the medians of each group. Statistical difference represented by: (*) represents $P < 0.005$; (**) represents $P < 0.0001$, following statistical analysis.

Sumário

Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose ..1
Composição da Banca Examinadora 1
Agradecimentos 2
Lista de abreviações 3
Lista de tabelas 5
Lista de figuras 6
Sumário 8
Resumo 1
Abstract 2
1 Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose ..4
1.1 Introdução 4
1.2 Revisão da literatura 5
1.2.1 Cinomose canina 5
1.2.2 A importância das citocinas no papel da imunopatologia da leucoencefalite desmielinizante 9
1.2.3 Diagnóstico, tratamento e prognóstico 11
1.2.4 Células-tronco 13
1.2.5 Interleucinas e fatores neurotróficos secretados pelas MSCs 14
1.2.6 Pré- condicionamento de MSCs 18
1.3 Objetivos 21
1.3.1 Objetivos específicos 21
1.4 Bibliografia 22
2 Trabalho Científico 36
Inflammatory Pre-conditioning of Canine Adipose-Derived MSCs: 37
A Potential Strategy for Demyelinating Disease Treatment 37
Abstract 37
Introduction 38
Material and methods 39
Approval by the Ethics Committee 39
Experimental Design 39
Characterization of AT-MSCs 41
Collection and Preparation of Biological Samples 41
Cell Cultivation and Stimulation 42
Morphological Analysis 43
Viability Analysis 43
Genomic Analysis 43
DNA- TARGETS 45
Sequence (5'->3') 45
Multiplex Cytokine Assay in AT-MSC Secretome. 46
Statistical Analyses and Variables. 46
Results 47

Characterization of AT-MSCs....47
Gene Expression of Neurotrophic Factors and Cytokines in Preconditioned AT-MSCs....50
Multiplex Cytokine Quantification in AT-MSC Secretome....51
Discussion....51
Conclusion....55
Bibliography....56
Figures....60
Tables....60
3 Considerações Finais....63

Resumo

A cinomose canina, causada pelo vírus da cinomose canina (CDV), é uma doença viral altamente contagiosa que acomete principalmente cães, provocando desmielinização em decorrência de um intenso processo inflamatório no sistema nervoso central (SNC). A medicina regenerativa tem se destacado como uma alternativa terapêutica, especialmente pelo uso de células estromais mesenquimais multipotentes derivadas de tecido adiposo (AT-MSCs), reconhecidas por suas propriedades imunomoduladoras e neuro-regenerativas. Considerando a escassez de estudos sobre o uso dessas células no contexto da leucoencefalite desmielinizante induzida pela cinomose, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do pré-condicionamento de AT-MSCs com diferentes estímulos: 1) TNF-α e IFN-γ (50 ng/ml); 2) pool de amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR); 3) pool de amostras de soro sanguíneo de cães naturalmente acometidos por cinomose em diferentes estágios da doença. O grupo controle consistiu de AT-MSCs cultivadas apenas em meio de cultura padrão. Após 72 horas de pré-condicionamento, foram analisadas a morfologia celular, a viabilidade, a expressão gênica (qPCR) de TNF-α, BDNF, GDNF, HGF, IL-10, PTGES2, IFN-γ e IDO, e a expressão proteica de MCP-1, IL-10, IL-8 e GM-CSF. Os resultados demonstraram que os diferentes estímulos foram capazes de modular distintamente as propriedades das AT-MSCs, promovendo perfis imunomoduladores ou neurotróficos. Dentre os grupos testados, a estimulação com TNF-α e IFN-γ foi a que mais potencializou tais propriedades, com aumento significativo na expressão gênica de BDNF, GDNF, IL-10 e PTGES2, bem como nas proteínas MCP-1 e IL-8. Conclui-se que o pré-condicionamento de AT-MSCs com TNF-α e IFN-γ constitui uma estratégia promissora para potencializar os efeitos terapêuticos dessas células em lesões neurológicas associadas a doenças desmielinizantes.

Abstract

Canine distemper, caused by the canine distemper virus (CDV), is a highly contagious viral disease that primarily affects dogs, leading to demyelination due to an intense inflammatory response in the central nervous system (CNS). Regenerative medicine has emerged as a therapeutic alternative, particularly through the use of multipotent mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue (AT-MSCs), known for their immunomodulatory and neuroregenerative properties. Given the scarcity of studies addressing the use of AT-MSCs in the context of CDV-induced demyelinating leukoencephalitis, this study aimed to investigate the effects of preconditioning AT-MSCs with different stimuli: (1) TNF-α and IFN-γ (50 ng/ml); (2) pooled samples of cerebrospinal fluid (CSF); and (3) pooled blood serum samples from dogs naturally affected by distemper at different disease stages. The control group consisted of AT-MSCs cultured in standard medium only. After 72 hours of preconditioning, cell morphology, viability, gene expression (qPCR) of TNF-α, BDNF, GDNF, HGF, IL-10, PTGES2, IFN-γ, and IDO, and protein expression of MCP-1, IL-10, IL-8, and GM-CSF were evaluated. The results showed that the different stimuli modulated AT-MSC properties in distinct ways, promoting either immunomodulatory or neurotrophic responses. Among the tested conditions, preconditioning with TNF-α and IFN-γ was the most effective in enhancing these properties, as evidenced by increased gene expression of BDNF, GDNF, IL-10, and PTGES2, along with elevated levels of MCP-1 and IL-8 proteins. These findings suggest that AT-MSCs preconditioned with TNF-α and IFN-γ represent a promising non-genetic strategy to enhance their therapeutic potential for neurological lesions associated with demyelinating diseases.

CAPÍTULO 1

1 Pré-condicionamento de células estromais mesenquimais multipotentes com soro e líquido cefalorraquidiano de cães acometidos por cinomose

1.1 Introdução

A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa que afeta principalmente os cães. A doença é causada pelo vírus da cinomose canina (CDV), que pertence à família *Paramyxoviridae* e ao gênero *Morbillivirus* (NELSON e COUTO, 2015). O CDV possui a capacidade de afetar diversas partes do corpo, incluindo os sistemas respiratório, gastrointestinal e nervoso central (NEWBURY, 2021).

Os sinais clínicos da doença podem variar de leves a graves, dependendo da capacidade de resposta do sistema imunológico do animal e da linhagem viral (NELSON e COUTO, 2015). A infecção por CDV tem a capacidade de gerar sinais multissistêmicos, como secreções nasais e oculares, pneumonias, dermatites, quadros gastrointestinais variados, e quadros neurológicos graves como ataxia, paraplegia, convulsões e mioclonias, entre outros. A infecção é transmitida por aerossóis, por contato direto com secreções, urina ou partículas contaminadas, possuindo assim, uma alta capacidade de propagação (NELSON e COUTO, 2015).

A cinomose canina tem se destacado como área de estudo não apenas na medicina veterinária, mas também como um modelo experimental para a esclerose múltipla (EM) em humanos, dado a semelhança neuropatológica entre as duas doenças (PINHEIRO *et al.*, 2019). A desmielinização, e degeneração axonal em decorrência do intenso processo inflamatório, ambas as doenças têm despertado indagações sobre novas terapias para os animais acometidos, visando não somente a cura, mas também o bem-estar e a

References

1. Abdallah, A. N., El-Tookhy, O. S., Shamaa, A. A., Aref, N. M., & Tohamy, A. F. (2019). Evaluation of treatment of experimentally induced canine model of multiple sclerosis using laser activated non-expanded adipose derived stem cells. *Research in Veterinary Science, 125*, 71–81. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.05.016

2. Areco, W. V. C., *et al.* (2021). Histopathological features of spinal cord lesions in dogs with distemper-associated demyelinating leucoencephalomyelitis. *Journal of Comparative Pathology*, 189, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.10.006

3. Amorim, R., *et al.* (2020). Placenta-derived multipotent mesenchymal stromal cells: A promising potential cell-based therapy for canine inflammatory brain disease. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/s13287-020-01799-0

4. Chen, X., Wang, S., & Cao, W. (2018). Mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation in cell therapy of neurodegenerative diseases. *Cellular Immunology*, 326, 8–14. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2017.06.006

5. Chimenes, N. D. (2023). Priming com INF-Ɣ e TNF-α aumenta potencial imunomodulador de células-tronco mesenquimais caninas in vitro (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu. Disponível em: http://hdl.handle.net/11449/243595

6. Dominici, M., *et al.* (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317. https://doi.org/10.1080/14653240600855905

7. Dias, I. E., *et al.* (2019). Mesenchymal stem cells therapy in companion animals: Useful for immune-mediated diseases? *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1–14. https://doi.org/10.1186/s12917-019-2087-2

8. Eggenhofer, E., *et al.* (2012). Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Frontiers in Immunology*, 3, 1–8. https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00297

9. Ghaneialvar, H., *et al.* (2017). Characterization and classification of mesenchymal stem cells in several species using surface markers for cell

therapy purposes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 33(1), 46–52. https://doi.org/10.1007/s12291-017-0641-x

10. Gugliandolo, A., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2020). Activation of Nrf2 by natural bioactive compounds: A promising approach for stroke? *International Journal of Molecular Sciences, 21*(14), 4875. https://doi.org/10.3390/ijms21144875

11. GUILLÉN, Maria I., *et al.* (2018). Paracrine Anti-inflammatory Effects of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Human Monocytes. *Frontiers In Physiology*, 9, 1–10, 31 maio 2018. Frontiers Media SA. http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2018.00661. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2018.00661/full. Acesso em: 01 mar. 2025.

12. Isprighausen, S., *et al.* (2021). Chronic viral infections persistently alter marrow stroma and impair hematopoietic stem cell fitness. *Journal of Experimental Medicine*, 218(12), 1–20. https://doi.org/10.1084/jem.20192070

13. Javed, A., *et al.* (2022). Association between mesenchymal stem cells and COVID-19 therapy: Systematic review and current trends. *Biomed Research International*, 2022(1), 1–17. https://doi.org/10.1155/2022/9346939

14. Jiang, W., *et al.* (2019). Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Proliferation*, 53(1), 1–10. https://doi.org/10.1111/cpr.12712

15. Jiang, X., *et al.* (2023). Mesenchymal Stem Cell Senescence during Aging: from mechanisms to rejuvenation strategies. *Aging And Disease*, 14(5), 1651, 01 jan. 2023. http://dx.doi.org/10.14336/ad.2023.0208. Disponível em: https://www.aginganddisease.org/EN/10.14336/AD.2023.0208. Acesso em: 01 jan. 2025.

16. Klemens, J., *et al.* (2019). Neurotoxic potential of reactive astrocytes in canine distemper demyelinating leukoencephalitis. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-019-48146-9

17. Krelić, N., *et al.* (2021). The Expression Pattern of Surface Markers in Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(14), 7476–7495. http://dx.doi.org/10.3390/ijms22147476. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7476. Acesso em: 12 out. 2024.

18. Kurte, M., *et al.* (2020). Time-dependent LPS exposure commands MSC immunoplasticity through TLR4 activation leading to opposite therapeutic outcome in EAE. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), 1–14. https://doi.org/10.1186/s13287-020-01840-2

19. Li, M., *et al.* (2022). Potential pre-activation strategies for improving therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells: current status and future prospects. *Stem Cell Research & Therapy*, 13(1), 1–22. http://dx.doi.org/10.1186/s13287-022-02822-2. Disponível em: https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-022-02822-2. Acesso em: 28 out. 2023.

20. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Análise de dados de expressão gênica relativa usando PCR quantitativo em tempo real e o método 2(−Delta Delta C(T)). *Methods*, 25(4), 402–408.

21. López-García, L., *et al.* (2021). TNF-α and IFN-γ participate in improving the immunoregulatory capacity of mesenchymal stem/stromal cells: Importance of cell–cell contact and extracellular vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9531–9540. https://doi.org/10.3390/ijms22179531

22. Marin-Redon, S., Budaszewski, R. F., Canal, C. W., & Ruiz-Saenz, J. (2019). Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virus. *Virology Journal, 16*, Article 30. https://doi.org/10.1186/s12985-019-1136-6

23. Mead, B., *et al.* (2020). TNFα-mediated priming of mesenchymal stem cells enhances their neuroprotective effect on retinal ganglion cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(2), 6–12. https://doi.org/10.1167/iovs.61.2.6

24. Pinheiro, L., *et al.* (2019). Mesenchymal stem cells in dogs with demyelinating leukoencephalitis as an experimental model of multiple sclerosis. *Heliyon*, 5(6), 1–7. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01857

25. Redondo-Castro, E., *et al.* (2017). Interleukin-1 primes human mesenchymal stem cells towards an anti-inflammatory and pro-trophic phenotype in vitro. *Stem Cell Research & Therapy*, 8, 79. https://doi.org/10.1186/s13287-017-0531-4

26. Rosich, K., *et al.* The effects of glial cell line-derived neurotrophic factor after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 34(24), 3311–3325, 15 dez. 2017. Mary Ann Liebert Inc. DOI: http://dx.doi.org/10.1089/neu.2017.5175. Disponível em: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/neu.2017.5175. Acesso em: 01 jan. 2025.

27. Seo, Y.; Shin, T.; Kim, H. (2019). Current strategies to enhance adipose stem cell function: an update. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3827–3859, 2019. MDPI AG. DOI:

http://dx.doi.org/10.3390/ijms20153827. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6696067/. Acesso em: 15 mar. 2023.

28. Silva-Carvalho, A., *et al.* (2020). GVHD-derived plasma as a priming strategy of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), 1–12. http://dx.doi.org/10.1186/s13287-020-01659-x. Disponível em: https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-01659-x. Acesso em: 15 out. 2023.

29. Spitzbarth, I., Baumgärtner, W. K., & Beineke, A. (2012). The role of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of spontaneous canine CNS diseases. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 147(1–2), 6–24. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.04.005

30. Singh, S., Anshita, D., & Ravichandiran, V. (2021). MCP-1: function, regulation, and involvement in disease. *International Immunopharmacology*, 101(7), 107598. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107598

31. Ulrich, R., *et al.* (2014). Transcriptional changes in canine distemper virus-induced demyelinating leukoencephalitis favor a biphasic mode of demyelination. *PLOS ONE*, 9(4), 1–13. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095917

32. Verdes, J. M., *et al.* (2024). Pathological study of demyelination with cellular reactions in the cerebellum of dogs infected with canine distemper virus. *Viruses*, 16(11), 1719–1730. https://doi.org/10.3390/v16111719

33. Wang, L., *et al.* (2021). Paracrine interleukin-8 affects mesenchymal stem cells through the Akt pathway and enhances human umbilical vein endothelial cell proliferation and migration. *Bioscience Reports*, 41(5), 1–13. https://doi.org/10.1042/bsr20210198

34. Wang, Y., *et al.* (2014). Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: Pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology*, 15(11), 1009–1016. https://doi.org/10.1038/ni.3002

35. Wu, L., *et al.* (2024). Stem cell therapies: A new era in the treatment of multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*, 15, 1–16. https://doi.org/10.3389/fneur.2024.1389697

36. Yang, A., *et al.* (2018). IL-8 enhances therapeutic effects of BMSCs on bone regeneration via CXCR2-mediated PI3k/Akt signaling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(1), 361–370. https://doi.org/10.1159/000491742