

PRINCIPAIS UTILIZAÇÕES DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NA OFTALMOLOGIA VETERINÁRIA DE CÃES E GATOS

Gabrieli Dias Cravo do Nascimento, Daniel Toniato Venturini, Karen Santos de Faria, Karina Preising Aptekmann.

Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. Departamento de Medicina Veterinária, Alto Universitário, s/n, Guararema - 29500000 Alegre - ES, Brasil, gabrielidiasc@gmail.com, danieltoniato6@gmail.com, karensantosfaria@gmail.com, kapreising@gmail.com

Resumo

Muitas doenças que acometem cães e gatos não possuem tratamento curativo ou mesmo opções terapêuticas eficazes. A partir disso, é de extrema importância a busca por terapias capazes de reestabelecer, de forma mais rápida possível, a qualidade de vida do paciente, buscando o retorno da funcionalidade do tecido afetado. Neste sentido, as células-tronco mesenquimais (CTMs) podem ser uma opção terapêutica promissora. Estas células são indiferenciadas, com capacidade de se diferenciar em diversos tipos de tecidos, atuando, por meio de diferentes mecanismos, na reparação tecidual. Neste sentido, pesquisas vêm sendo realizadas sobre o emprego das CTMs na terapia de diversas afecções. Na oftalmologia veterinária, os relatos da terapia com CTMs são principalmente em ceratite ulcerativa e ceratoconjuntivite seca (CCS), sendo demonstrados efeitos extremamente satisfatórios, uma vez que proporcionam rápida reparação tecidual e significativo retorno da função normal da estrutura acometida, sem a ocorrência de efeitos adversos. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo descrever os principais efeitos obtidos com o uso das CTMs na oftalmologia veterinária.

Palavras-chave: células indiferenciadas. olho seco. úlcera.

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária.

Introdução

Na medicina veterinária, há dificuldade na realização de terapias curativas em muitas doenças, sendo comumente empregados tratamentos paliativos para alívio dos sinais clínicos ou sequelas resultantes da doença, sendo necessária a busca por terapias alternativas, como a utilização de células-tronco. As células-tronco são células indiferenciadas, que encontram-se normalmente armazenadas em microambientes em todos os tecidos dos seres vivos, em estado quiescente. Dessa forma, na ocorrência de uma lesão tecidual ou morte celular, essas células são ativadas para a reposição tecidual (Malard; Brunel, 2021).

A partir do conhecimento dessa função e em busca de terapias renovadoras, estudos surgiram a respeito da utilização de células-tronco mesenquimais (CTMs), sendo demonstrado que estas apresentam capacidade de se diferenciar em diversas linhagens de tecidos, como fibroblastos, adipócitos, osteoblastos e condrócitos (Spees; Lee; Gregory, 2016). Além disso, não se limitam na diferenciação em células de linhagem mesodérmica, diferenciando-se em neurônios, endotélio e hepatócitos (Nauta; Fibbe, 2007).

Em cães e gatos, no qual há apego emocional do tutor, é de extrema importância o emprego terapias capazes de reestabelecer, de forma mais rápida possível, a qualidade de vida do paciente. Neste sentido, a terapia com CTMs se apresenta como uma alternativa promissora para reconstituição da estrutura e funcionalidade normal do tecido afetado em diversas afecções (Malard; Brunel, 2021), como demonstrado nos estudos de Falcão *et al.*, (2019), Amorim *et al.*, (2022), Carneiro (2018), Villatoro *et al.*, (2015) e Bittencourt *et al.*, (2016). Assim, este trabalho tem como objetivo a descrição, por meio de uma pesquisa bibliográfica ampla, dos efeitos obtidos com a utilização da terapia com CTMs em afecções oculares de cães e gatos.

Metodologia

A metodologia consiste na revisão de literatura, por meio de uma pesquisa bibliográfica ampla, utilizando trabalhos pré-existentes em plataformas digitais, sendo elas “Web of Science”, “PubMed” e “Google acadêmico”, sendo utilizados na busca os descritores células-tronco mesenquimais, medicina veterinária, cão, olho, ceratite ulcerativa, úlcera de córnea, ceratoconjuntivite seca e olho seco, havendo preferência pela utilização de trabalhos publicados a partir do ano de 2015, além da utilização de livros sobre oftalmologia veterinária.

Resultados

Dentre os trabalhos encontrados na busca, 13 foram selecionados para fazerem parte desta revisão bibliográfica, sendo levados em consideração o ano de publicação, preferindo-se os mais recentes, a confiabilidade das informações contidas, com a utilização de diversas outras referências, trabalhos contidos em sites de busca confiáveis, como “Web of Science”, “PubMed” e “Google acadêmico”, e a utilização de relatos de caso ou estudos experimentais, evitando-se revisões contidas em trabalhos de conclusão de curso e afins.

De acordo com a literatura, fisiologicamente, as células-tronco encontram-se armazenadas em microambientes do tecido, conhecidos como nichos, em estado quiescente. Assim, com a ocorrência de lesões ou morte celular, essas células são ativadas para a reposição tecidual. As CTMs são células multipotenciais que podem ser isoladas de diversos tecidos, como o adiposo, placenta, tecidos fetais, entre outros (Nauta; Fibbe 2007). Na medicina veterinária, as CTMs utilizadas como opção terapêutica são células adultas, sendo mais comumente extraídas de tecido adiposo de animais em procedimentos eletivos (Malard; Brunel, 2021).

Essas células atuam na reparação tecidual através de diferentes mecanismos, possuindo capacidade de se diferenciar em tipos de células de substituição, realizar fusão celular, resgatando células danificadas, e secreção de fatores parácrinos, como hormônios, citocinas e fatores de crescimento (Spees; Lee; Gregory, 2016).

Outro mecanismo de reparação consiste na secreção do fator de crescimento endotelial (VEGF), favorecendo à angiogênese. Além de diversos outros fatores como PGE 2, que atua induzindo células dendríticas a regular positivamente a IL (citocina anti-inflamatória interleucina), enquanto reduz a secreção do fator de necrose tumoral pró-inflamatório alfa (TNF α). Esse processo favorece uma mudança na proporção de células T auxiliares, reduzindo o subtipo inflamatório e aumentando, dessa forma, as células do subtipo antiinflamatório. Além disso, este mesmo estudo demonstrou que as CTMs podem induzir a apoptose de células do subtipo inflamatório (Spees; Lee; Gregory, 2016).

As CTMs apresentam ainda capacidade de transferir organelas, como as mitocôndrias, ao tecido lesionado. Transferem ainda outras moléculas, como proteínas, ácido ribonucleico, hormônios e produtos químicos, com o auxílio de exossomos ou microvesículas (Spees; Lee; Gregory, 2016).

Na oftalmologia veterinária, foram encontrados relatos sobre a utilização de CTMs para tratamento de ceratites ulcerativas (Amorim, 2022; Falcão, 2019; Malard; Brunel, 2021; Malagó, 2020), proporcionando rápida cicatrização da lesão corneana, e em ceratoconjuntivite seca (CCS) (Bittencourt *et al.*, 2016; Carneiro, 2018; Malard; Brunel, 2021; Villatoro *et al.*, 2015), sendo eficiente para o aumento da produção lacrimal e consequente melhora nos sinais clínicos. Em ambos os casos, não foram descritos efeitos adversos.

Discussão

A ceratite ulcerativa é uma afecção extremamente comum na rotina oftalmológica veterinária, e se caracteriza por uma solução de continuidade na córnea, sendo classificada de acordo com a profundidade em que a atinge. O tratamento clínico para essa afecção é baseado na utilização de colírios antibióticos profiláticos a cada 6 ou 8h, para evitar a infecção secundária da córnea, sendo a Tobramicina e Ciprofloxacina os mais utilizados (Cunha, 2008; Whitley; Hamor, 2021). Como coadjuvantes no tratamento, é indicada a utilização de inibidores de proteases e collagenases, como o

EDTA, pois apresentam a capacidade de eliminar essas enzimas degradadoras de colágeno e que retardam, conseqüentemente, o processo de cicatrização (Cunha, 2008).

No entanto, ao se tratar de úlceras de córnea profundas, o tratamento é cirúrgico (Whitley; Hamor, 2021). No que diz respeito à úlceras indolentes, o tratamento pode ser ainda mais complexo devido à característica recidivante da lesão, sendo indicado procedimento de desbridamento corneano seguido de ceratotomia em grade, e, caso ocorra recidivas, a cirurgia deve ser indicada (Maggs, 2008).

Em um estudo realizado por Falcão *et al.*, (2019), foram selecionados 26 cães diagnosticados com úlcera de córnea profunda para a terapia com CTMs, que foram coletadas a partir do tecido adiposo de um cão doador saudável, para o tratamento, foi realizada aplicação por via subconjuntival, acompanhada de instilação tópica. Neste estudo, foi constatado que a terapia com CTMs foi eficaz no tratamento da ceratite ulcerativa com graus variados de comprometimento, uma vez que 22 cães (84,6%) apresentaram completa cicatrização da lesão em 14 dias, dispensando qualquer outro tipo de tratamento. Além de se apresentar como um método não invasivo e rápido, nenhum animal submetido à terapia neste estudo apresentou qualquer efeito adverso.

Em outro estudo realizado por Amorim *et al.*, (2022), as CTMs foram utilizadas para terapia de uma úlcera de córnea profunda em uma cadela que não respondeu ao tratamento clínico convencional, e não estava apta a realizar a cirurgia. Foram utilizadas células provenientes de tecido adiposo de um doador sadio, sendo estas aplicadas por via subconjuntival e em forma de colírio no olho afetado. Foi constatada completa melhora nos sinais clínicos e cicatrização da úlcera 14 dias após a aplicação das CTMs, havendo ainda pouca formação de tecido cicatricial (Amorim *et al.*, 2022).

Malagó *et al.*, (2020) realizaram um estudo clínico com aplicação de CTMs em 10 cães diagnosticados com defeito epitelial corneano crônico espontâneo, e o tempo médio de cicatrização da lesão foi de 21 dias. Em nenhum dos estudos, foram detectadas reações adversas. Dessa maneira, as CTMs podem ser uma boa alternativa para casos de úlceras de córnea profundas ou indolentes, em que o paciente não está apto ou não se deseja a realização do procedimento cirúrgico, uma vez que que demonstraram-se como um método pouco invasivo e de rápido resultado.

A CCS, por sua vez, é uma afecção crônica comum na oftalmologia veterinária, que ocorre, geralmente, por uma alteração na função ou estrutura das glândulas lacrimais, sendo estas as responsáveis pela produção da camada aquosa da lágrima (Silva, 2017). Dessa forma, causa danos à superfície ocular e alterações neurosensoriais, gerando assim ressecamento e inflamação da córnea e conjuntiva e dor ocular, podendo ainda, decorrente dessas alterações, levar a um quadro de deficiência visual (Silva, 2017).

Diversas são as causas para a ocorrência da CCS, que ocorre devido a uma infiltração de células T na glândula lacrimal e liberação de citocinas pró-inflamatórias, levando à inflamação e infiltração de células imunes no parênquima da glândula lacrimal. Dessa forma, a proporção de células secretoras é reduzida, causando a diminuição na quantidade de lágrima produzida e sua conseqüente hiperosmolaridade, o que, por sua vez, gera um quadro de inflamação na superfície ocular (Ganesalingan *et al.*, 2019).

Durante o processo inflamatório, ocorre apoptose e autofagia das células secretoras, iniciando-se o processo de reparação tecidual com a estimulação das células-tronco presentes na região periférica dos ductos. Contudo, durante a inflamação, as células de defesa se estabelecem nesta mesma região, podendo reduzir a quantidade de células-tronco disponíveis no local e comprometer, desta maneira, o mecanismo de reparação da glândula lacrimal (Malard; Brunel, 2021).

Os métodos convencionais para tratamento da CCS limitam-se à redução no desconforto da superfície ocular, e consistem principalmente na substituição de lágrimas por compostos artificiais, terapia antiinflamatória e terapia imunossupressora local. Dessa forma, por possuírem efeitos antiinflamatórios, reguladores imunológicos e de reparo tecidual, as CTMs apresentam-se como uma alternativa promissora para o tratamento da síndrome do olho seco. Essas células atuam na afecção tratando os danos causados pela inflamação, na reposição tecidual da córnea e da conjuntiva e, principalmente, restaurando a integridade do filme lacrimal (Jiang; Lin; Gao, 2022).

Em um estudo realizado por Carneiro (2018), foram utilizados quatro cães acometidos bilateralmente pela CCS, sendo aplicadas CTMs autólogas, provenientes de tecido adiposo, via instilação realizada em cada olho, na quantidade de 1×10^6 , com intervalo de 30 dias, totalizando três aplicações. Foi notada redução dos sinais clínicos, com melhora quanto à opacidade e vascularização da córnea e aumento significativo da produção lacrimal.

Villatoro *et al.*, (2015) utilizou, em seu estudo, 12 cães afetados bilateralmente pela CCS, sendo estes refratários aos tratamentos convencionais. Foram injetadas CTMs provenientes de tecido adiposo, ao redor da glândula lacrimal principal, sendo realizada uma injeção contendo 5×10^6 , e outra com 3×10^6 CTMs, de forma seguida, e procedeu-se com avaliação dos pacientes durante nove meses. Neste estudo, constatou-se que as CTMs persistem na região de aplicação por cerca de quatro semanas, podendo ser necessária, em alguns casos, uma segunda aplicação. Com a observação clínica do processo, foi demonstrado melhora significativa durante os primeiros três meses após o transplante, permanecendo-se constante até a última avaliação, e não apresentando qualquer sinal de regressão ou piora do quadro clínico.

Na pesquisa de Bittencourt *et al.*, (2016) foram aplicadas CTMs de origem de tecido adiposo em 15 cães que apresentavam sinais de CCS há pelo menos um ano, sendo realizada uma avaliação clínica detalhada antes do procedimento. Foi realizada aplicação única, por meio de injeção na região anatômica da glândula dorsal e na terceira pálpebra, na quantidade de 2×10^6 . No dia 28 após o transplante, foi observada melhora, sendo demonstrada por uma redução da secreção ocular, da hiperemia e da opacidade da córnea, além do aumento na produção lacrimal. Após 12 meses, alguns pacientes foram reavaliados, não demonstrando qualquer sinal de regressão.

Dessa forma, a terapia com utilização de CTMs foi efetiva para os casos de CCS, pois, devido ao efeito antiinflamatório, imunomodulador e de reparação tecidual, apresenta capacidade de reestabelecer as glândulas lacrimais, possibilitando o desempenho de sua função de forma a garantir a normalidade do filme lacrimal.

Assim, com base nesta revisão de literatura, foi possível constatar que as CTMs podem ser eficientes na oftalmologia veterinária, principalmente no que diz respeito ao tratamento da ceratite ulcerativa e síndrome do olho seco.

Conclusão

A terapia com CTMs apresenta-se como uma alternativa promissora na medicina veterinária, uma vez que, devido à sua capacidade de diferenciação e regeneração celular, proporciona um alto reparo tecidual. Ao se tratar da oftalmologia de pequenos animais, essas células foram capazes de causar rápida melhora do quadro clínico dos pacientes, proporcionando retorno da atividade normal da estrutura acometida, especialmente nos casos de ceratite ulcerativa e CCS. Neste sentido, o emprego das CTMs nas afecções oftálmicas foi capaz de evitar a ocorrência de um possível procedimento cirúrgico, como nos casos de ceratite ulcerativa, ou a necessidade de tratamento pelo restante da vida do paciente, como nos casos de CCS.

Referências

- AMORIM, V.M *et al.*, Cell therapy with mesenchymal stem cells in deep corneal ulcer in dogs. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n.3, p. 19172-19180, mar. 2022.
- BITTENCOURT, M.K.W. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Cell Medicine**, v. 8, n.3, p. 63-77, 2016.
- CARNEIRO, R.M.F. Uso tópico de células-tronco mesenquimais em cães com ceratoconjuntivite seca (CCS), Belém, 2018.
- FALCÃO, M.S.A *et al.*, Effect of allogeneic mesenchymal stem cells (MSCs) on corneal wound healing in dogs. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v.10, n. 5, p. 440-445, sep. 2019.
- GANESALINGAM, K *et al.*, Molecular evidence for the role of inflammation in dry eye disease. **Clinical & experimental optometry**, v. 102, n. 5, p. 446-454, 2019.
- JIANG, Y; LIN, S; GAO, Y. Mesenchymal stromal cell-based therapy for dry eye: Current Status and Future Perspectives. **Cell Transplant**. v. 31, p. 1-14, 2022.

MAGGS, D.J. Cornea and Sclera. In: **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. Missouri: Saunders Elsevier, 2008.

MALARD, P.F; BRUNEL, H.S.S. Células-tronco na Medicina Veterinária: princípios básicos para utilização da terapia celular na rotina clínica. 1 ed. Brasília. **Bio Cell**, 2021.

NAUTA, A.J; FIBBE, W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. **Blood**, vol. 110, n.10, p. 3499-3506, nov. 2007.

SILVA, A. C.E. Oftalmologia Veterinária. **Editora e Distribuidora Educaional SA**, Londrina, 2017.

SPEES, J.L; LEE, R.W; GREGORY, C.A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. **Stem Cell Researchy & Terapy**, v. 7, n. 1, p.125, aug. 2016.

VILLATORO, A.J *et al.*, Use of adipose-derived mesenchymal stem cells in keratoconjunctivitis sicca in a canine model. **Biomed Research International**, 2015.

MALAGÓ. R.M. **Estudo clínico da aplicação de células-tronco mesenquimais em cães portadores de defeito epitelial corneano crônico espontâneo**. Campinas, 2020.

Agradecimentos

À Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes), pelo fornecimento de um ensino de altíssima qualidade.