



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**Segurança da utilização endovenosa de células-tronco
mesenquimais alogênicas em gatos domésticos hígidos sedados
com cloridrato de dexmedetomidina**

LUIZ GUSTAVO PIROLI CABRAL

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO DE 2022

LUIZ GUSTAVO PIROLI CABRAL

**Segurança da utilização endovenosa de células-tronco
mesenquimais alogênicas em gatos domésticos hígidos sedados
com cloridrato de dexmedetomidina**

Trabalho apresentado à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre
em Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique
Bezerra Ximenes

BRASÍLIA/DF

NOVEMBRO DE 2022

LUIZ GUSTAVO PIROLI CABRAL

**Segurança da utilização endovenosa de células-tronco
mesenquimais alogênicas em gatos domésticos hípidos sedados
com cloridrato de dexmedetomidina**

Trabalho apresentado á Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre
em Saúde Animal

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Henrique Bezerra Ximenes (Orientador)

Dra. Hilana dos Santos Sena Brunel

Dra. Liria Queiroz Luz Hirano

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível graças ao apoio de várias pessoas, que mesmo em meio a uma pandemia, colaboraram de diferentes formas para que o mesmo fosse concluído.

Agradeço ao Laboratório Bio Cell, a Dra. Patrícia Malard e toda sua equipe pelo fornecimento das células-tronco mesenquimais allogênicas para o estudo;

À Clínica Veterinária Pet Stop, à médica veterinária Juliana Mori e toda sua equipe pelo apoio na realização dos exames laboratoriais;

Ao médico veterinário Fernando Rodrigues e à graduanda em medicina veterinária Joice Adrielly, que colaboraram de forma ativa na parte prática do estudo;

Aos tutores, que em mim confiaram e permitiram a participação de seus animais neste trabalho;

Ao professor Dr. Paulo Fernandes Marcusso, pelos conselhos, paciência e boa vontade ao longo deste trabalho;

Ao professor Dr. Fábio Henrique Bezerra Ximenes, que aceitou me orientar, tornando possível a execução desse estudo;

Ao meu grande amigo, Thiago Oliveira, por suas observações essenciais ao desenvolvimento desse trabalho;

E, por último, mas não menos importante, agradeço à minha esposa Juliana, pelo apoio moral e compreensão para comigo durante a elaboração deste estudo.

RESUMO

O uso de células-tronco mesenquimais (CTMs) alogênicas apresenta efeitos benéficos em diferentes afecções clínicas, contudo esta terapia é ainda pouco estudada em felinos, sendo importante avaliar a segurança da sua utilização. No presente estudo, oito gatos (5 machos e 3 fêmeas) saudáveis receberam infusão endovenosa de CTMs alogênicas (1×10^6 células por kg) e foram então monitorados durante 4 semanas. Não houve manifestações físicas importantes de efeitos colaterais conforme os descritos pela literatura. Na análise laboratorial, apenas o hematócrito apresentou redução significativa da média em relação aos níveis iniciais ($p = 0.045$). Apesar dessa redução, o hematócrito pode ser influenciado por fatores individuais e não atingiu valores abaixo da referência, retornando aos níveis originais ao fim do acompanhamento. Os resultados apontam para a segurança de utilização de infusão endovenosa lenta de CTMs alogênicas em felinos na dose estabelecida.

Palavras-chave: gatos, terapia celular, hematócrito, sedação

ABSTRACT

The use of allogeneic mesenchymal stem cells (MSCs) shows beneficial effects in different clinical conditions, however this therapy remains poorly studied in feline species, then being it important to evaluate the safety of its use. In the present study, eight healthy domestic cats (5 males and 3 females) received MSCs (1×10^6 cells per kg) intravenous infusion and were monitored along 4 weeks. There were no major physical manifestations of side effects, as described in literature. In laboratorial analysis, only the hematocrit presented significant average reduction as in relation to the inicial levels ($p = 0.045$). Despite this reduction, the hematocrit can be influenced by individual factors and did not reach values below the species reference, returning to the original values by the end of the follow-up process. The results point to the safety to using slow allogeneic MSCs intravenous infusion in feline species at the established dose.

Keywords: cats, cell therapy, hematocrit, sedation

RESUMEN

El uso de células madre mesenquimales (MSC) alogénicas tiene efectos beneficiosos en diferentes condiciones clínicas, sin embargo esta terapia aún es poco estudiada en felinos, es importante evaluar la seguridad de su uso. En el presente estudio, ocho gatos sanos (5 machos y 3 hembras) recibieron una infusión intravenosa de MSC (1×10^6 células por kg) y luego se controlaron durante 4 semanas. No hubo manifestaciones físicas importantes, de efectos secundarios, descritas en la literatura. En el análisis de laboratorio, sólo el hematocrito mostró una reducción media significativa en relación a los niveles iniciales ($p = 0,045$). A pesar de esa reducción, el hematocrito puede verse influenciado por factores individuales y no alcanzó valores por debajo de la referencia, volviendo a los niveles originales al final del seguimiento. Los resultados apuntan a la seguridad del uso de infusión intravenosa lenta de MSC alogénicas en gatos a la dosis establecida.

Palabras clave: gatos, terapia celular, hematocrito, sedación

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Amplitude, mediana e quartis dos valores de hematócrito (à esquerda) e hemoglobina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28)..	21
Figura 2	Amplitude, mediana e quartis dos valores de hemácias (à esquerda) e trombócitos (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28).	22
Figura 3	Amplitude, mediana e quartis dos valores de leucócitos totais dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28).....	22
Figura 4	Amplitude, mediana e quartis dos valores absolutos de neutrófilos bastonetes (à esquerda) e neutrófilos segmentados (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28).....	22
Figura 5	Amplitude, mediana e quartis dos valores de ureia (à esquerda) e creatinina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28)..	23
Figura 6	Amplitude, mediana e quartis dos valores de albumina (à esquerda) e globulinas (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28).....	23
Figura 7	Amplitude, mediana e quartis dos valores de ALT (à esquerda) e fosfatase alcalina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28).	23
Figura 8	Amplitude, mediana e quartis dos valores de ureia (à esquerda) e creatinina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28)	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores de frequência cardíaca (BPM) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.....	218
Tabela 2	Valores de frequência respiratória (RPM) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.....	19
Tabela 3	Valores de temperatura retal (°C) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.....	20
Tabela 4	Resultados da aplicação do Teste t em dados de eritrograma obtidos ao longo do período de estudo.....	24
Tabela 5	Resultados da aplicação do Teste t em dados de leucogramas obtidos ao longo do período de estudo.....	25
Tabela 6	Resultados da aplicação do Teste t em dados bioquímicos obtidos ao longo do período de estudo... ..	25

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ALT	Alanina Animotransferase
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CT	Células-tronco
CTA	Célula-tronco adulta
CTE	Célula-tronco embrionária
CTH	Célula-tronco hematopoiética
CTMs	Células-tronco mesenquimais
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco
FA	Fosfatase Alcalina
FACISA	Faculdade de Ciências e Saúde de Unai
FC	Frequência Cardíaca
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
FR	Frequência Respiratória
HO-1	Hemeoxigenase-1
IDO2,3	Indoleamine 2,3-dioxigenase
IL	Interleucina
IM	Via Intramuscular
IPSC	<i>Induced Pluripotent Stem Cells</i>
MHC	Complexo de Histocompatibilidade Maior
RPM	Respirações por Minuto
PBS	Solução tampão de fosfato padrão
PPT	Proteínas plasmáticas totais
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TR	Temperatura Retal
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
VCM	Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	14
2.2	OBTENÇÃO DAS CTMS ALOGÊNICAS.....	16
2.3	AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E SOROLÓGICA	16
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
3	RESULTADOS.....	17
3.1	PARÂMETROS FÍSICOS	17
3.2	PARÂMETROS LABORATORIAIS.....	21
4	DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	31
	ANEXOS	35
	ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO EXPERIMENTO PELA CEUA DA FACISA.....	35
	ANEXO B – MODELO DE TCLE ASSINADOS PELOS TUTORES DOS ANIMAIS	36
	ANEXO C – CÁLCULO AMOSTRAL PARA DELINEAMENTO ESTATÍSTICO	38
	ANEXO D – VALORES DOS ERITROGRAMAS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	39
	ANEXO E – VALORES BIOQUÍMICOS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	41
	ANEXO F – VALORES DOS LEUCOGRAMAS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	43

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, os felinos têm conquistado cada vez mais aceitação como animais de estimação, o que se reflete no crescimento da população desses pets, assim como no crescimento da medicina felina (RECHE JÚNIOR, 2018). Em decorrência do aumento do cuidado com esses animais, eles têm vivido por mais tempo e, durante esse período, diferentes doenças podem se manifestar (TAYLOR, 2016). Como opção terapêutica para diversas enfermidades, a utilização de células-tronco, também chamada de terapia celular, possui grande potencial de aplicabilidade, porém ainda há várias questões a serem respondidas com relação à sua utilização, inclusive sobre a sua segurança (QUIMBY, 2018). O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a segurança da utilização de células-tronco mesenquimais (CTMs) alogênicas por via endovenosa através da monitoração de parâmetros físicos e hematológicos de um grupo de gatos hípidos submetidos a esse procedimento.

As células-tronco (CT) são células indiferenciadas com grande capacidade de autorrenovação e de produção de ao menos um tipo celular altamente especializado, com a possibilidade de reestabelecer aspectos estruturais e funcionais de órgão e estruturas (BYDLOWSKY, 2009). Os potenciais de diferenciação dessas células dependem de sua origem. As totipotentes podem se diferenciar em qualquer tecido que compõe o organismo. As pluripotentes são capazes de se diferenciarem em quase todos os tecidos, com exceção da placenta e dos anexos embrionários. As multipotentes se diferenciam em vários tipos de células, mas de um mesmo folheto embrionário (MACHADO, 2018).

As células-tronco são categorizadas em embrionárias (CTEs), se forem obtidas de embriões, ou em células-tronco adultas (CTA) se forem obtidas de tecidos adultos formados. Apesar do potencial totipotente das CTEs, fatores éticos, além da possibilidade de rejeição e potencial mutagênico limitam seu estudo clínico e uso. As CTAs vêm sendo usadas há algumas décadas, através da coleta de sangue ou de medula óssea, para a realização da separação das células-tronco hematopoiéticas (CTHs) (ZAKRZEWSKI, 2019). Há mais de uma década, estudos vêm mostrando também a possibilidade de obtenção de células-tronco por indução; as CT de pluripotência induzida ou iPSC (*induced pluripotent stem cells*) são células já diferenciadas que são reprogramadas através de manipulação genética *in vitro* e voltam a se comportarem como células-tronco (MACHADO, 2018). No entanto, a facilidade de cultivo das células tronco mesenquimais (CTMs) tem chamado a atenção para a sua

utilização em tratamentos de diversas doenças devido ao seu potencial multipotente (BYDLOWSKY, 2009).

Em decorrência dessas características de multipotência, além da liberação de citocinas e fatores de crescimento, as células-tronco mesenquimais vem sendo utilizadas em escala crescente como forma terapêutica para diversas doenças em animais (DIAS et al., 2019). Para isso, essas células são aplicadas por via endovenosa ou local. Os tipos de transplantes realizados na terapia celular podem ser autólogos, alogênicos ou heterólogos. No transplante autólogo ou autogênico as CT são oriundas do próprio receptor, portanto possuem a mesma composição genética. O transplante alogênico acontece entre indivíduos da mesma espécie (SILVA JÚNIOR, 2009).

As CTMs alogênicas são mais fáceis de serem disponibilizadas por questões de logística e por demonstrarem bons resultados, enquanto a capacidade de CTMs autólogas pode ter redução na sua proliferação em animais com estados patológicos concorrentes, como uremia (KLINKHAMMER, 2014). Esses fatores têm trazido o foco da terapia celular para a utilização de CTMs alogênicas. A capacidade de proliferação indefinida, de autorrenovação, de produção de diferentes linhagens celulares e citocinas atuantes no sistema inflamatório e imunológico (OLIVEIRA et al., 2005) têm motivado a sua utilização em gatos como terapêutica para doenças como gengivoestomatite felina crônica, insuficiência renal aguda e crônica, enteropatias e asma, além de osteoartrite e cardiomiopatia (QUIMBY, 2018). Essas células podem ser provenientes de diversos tecidos no indivíduo adulto, inclusive do adiposo, local de preferência de obtenção atualmente no ramo da medicina veterinária (CHUNG et al., 2012).

Apesar de alguns estudos já mostrarem o uso de CTMs alogênicas é seguro e sem possibilidade de causar tumores e reações imunogênicas (JIMENÉZ e GUERRERO, 2017), considera-se importante avaliar a segurança da aplicação dessas células em felinos, visto que essa ainda é uma espécie pouco estudada para esse tipo de terapia.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado em um grupo de 8 felinos (5 machos e 3 fêmeas) sem raça definida, todos castrados, com idades entre 1,5 anos e 6 anos de idade de tutores da cidade Unaí, Minas Gerais, entre janeiro e abril de 2022. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências e Saúde de Unaí (FACISA), protocolo 002/2020 (Anexo A). Os tutores dos animais foram esclarecidos a respeito do projeto, tendo autorizado voluntariamente a participação dos seus animais, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme modelo constante em anexo (Anexo B). A experimentação consistiu na aplicação de 1×10^6 CTMs por kg de peso por via endovenosa em animais saudáveis e monitoração semanal destes através de exame físico e exames laboratoriais durante 4 semanas para averiguação de possíveis alterações após a aplicação.

As coletas e avaliações clínicas foram realizadas nas residências dos animais, ao passo que as aplicações de CTMs foram efetuadas nas dependências da Clínica Escola de Medicina Veterinária da FACISA, em Unaí, MG. Com o objetivo de facilitar o manejo, minimizar alterações fisiológicas nos parâmetros físicos e hematológicos causadas pelo estresse da manipulação e aumentar a segurança dos animais e dos avaliadores, foi padronizado que todos os animais seriam submetidos a protocolo de sedação em todas as avaliações. Como agente sedativo, foi escolhido o Cloridrato de Dexmedetomidina (Dextomitor, Zoetis, Brasil) na dose de 7,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por via intramuscular (IM) e utilização do reversor (Cloridrato de Atipamezol (Antisedan®, Zoetis, Brasil) na dose 37,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IM.

O exame físico consistiu na avaliação de mucosas e linfonodos, aferição de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR), conforme procedimentos descritos por Feitosa (2014). Os exames laboratoriais foram: hemograma, dosagem sérica das enzimas alanina aminotransferase (ATL) e fosfatase alcalina (FA) e das concentrações de creatinina, ureia e proteínas plasmáticas totais (PPT) (KANEKO et.al, 2008). Para a avaliação física e coleta de sangue, instituiu-se o seguinte protocolo:

- 1) Início de jejum alimentar de 8 horas na noite anterior à avaliação e coleta de sangue;

- 2) Avaliação física feita pela manhã mediante contenção física e registro dos dados;
- 3) Aplicação de sedativo por via IM, a qual apresentava latência de cerca de 40 minutos para o efeito desejado;
- 4) Nova avaliação física e registro dos parâmetros;
- 5) Realização da coleta de sangue;
- 6) Aplicação do reversor do sedativo por via IM, com início do efeito após aproximadamente 5 minutos.

Inicialmente, 7 dias antes da aplicação das CTMs (D-7), foi realizado procedimento de triagem dos animais. Efetuou-se o exame físico mediante contenção física e registro dos parâmetros avaliados. Os animais foram então sedados, os parâmetros físicos foram reavaliados e registrados e foi coletado sangue para realização dos exames laboratoriais já citados, sendo também incluída sorologia para o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e o vírus da leucemia felina (FeLV), uma vez que estas enfermidades causam alterações laboratoriais importantes nos felinos (MARÇOLA. 2011), comprometendo o resultado do estudo. Em seguida, os gatos receberam aplicação do reversor do sedativo. Não ocorreram alterações relevantes nos exames realizados ou manifestações clínicas que apontassem para a não higiene dos animais, assim como o resultado negativo para FIV/FeLV em todos os animais que, desta forma, foram incluídos no estudo.

No momento da aplicação das CTMs (D0), cada gato do estudo passou por avaliação física, sedação com o mesmo protocolo, reavaliação dos parâmetros físicos e recebeu aplicação endovenosa de CTMs (1 milhão por kg de peso) diluídas em 30 ml soro Ringer com Lactato através de cateterização de veia cefálica, administrada de forma lenta, infundida ao longo de 40 minutos. Ao término da infusão, todos os animais receberam aplicação intramuscular de cloridrato de atipamezol para reversão da sedação. Os procedimentos foram realizados no ambulatório da Clínica Escola de Medicina Veterinária da FACISA, onde os animais ficaram em observação por um período de 8 horas para acompanhamento de possíveis reações adversas.

Nas quatro semanas subsequentes (D07, D014, D21 e D28) procedeu-se a monitoração, através dos parâmetros físicos e laboratoriais já mencionados, com exceção da sorologia para FIV/FeLV, utilizando a mesma rotina inicialmente estabelecida.

2.2 OBTENÇÃO DAS CTMS ALOGÊNICAS

As células-tronco mesenquimais alogênicas utilizadas no estudo foram produzidas pelo Laboratório BIO CELL, licença número 10.332/2020. As CTMs foram obtidas de tecido adiposo de gatos comprovadamente hígidos através de exames clínicos e hematológicos. Foram extraídos fragmentos de tecido adiposo oriundo do tecido subcutâneo da região da base da cauda dos animais sob sedação. As amostras foram armazenadas em tubo Falcon com meio de transporte, colocadas em caixa de isopor contendo gelo e encaminhadas ao laboratório BIO CELL situado em Brasília-DF para isolamento, cultivo e caracterização das CTMs. No ambiente do laboratório, os debris celulares e excesso de sangue foram removidos do tecido adiposo através de lavagem com solução tampão de fosfato padrão (PBS). Posteriormente, foi realizada fragmentação do tecido em pequenas partículas que foram colocadas em solução de colagenase e hialuronidase para digestão enzimática. O material foi centrifugado e foi feita ressuspensão do pellet celular. As células mononucleares obtidas foram colocadas em garrafas de cultivo com meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), armazenadas em estufas à temperatura de 37,5°C e 5% de gás carbônico (CO₂) para a obtenção de maior número de células. Após a obtenção de 80% de confluência celular, foi realizada a tripsinização e congelamento das células em nitrogênio líquido. As células destinadas ao estudo foram enviadas a Unai, sob resfriamento, em seringas individualizadas contendo as doses específicas de cada animal determinadas de acordo com o peso de cada indivíduo.

2.3 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E SOROLÓGICA

As análises hematológicas, bioquímicas e sorológicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Clínica Veterinária Pet Stop Unai em parceria com o Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, *Campus* Unai. Para o hemograma, amostras sanguíneas de 0,5 ml foram coletadas após jejum alimentar de oito 8 horas, preferencialmente por punção venosa jugular, tendo como alternativas a veia femoral e a cefálica. O material utilizado incluiu seringa de 3,0 ml com agulha de calibre 25x07 e tubos coletores contendo EDTA K2, nos quais foram armazenadas sob refrigeração de 4°C. As amostras foram processadas no mesmo dia em um aparelho hematológico automático (BC 2800 Vet, Mindray, China) para a mensuração de leucócitos totais, eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM),

concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e trombócitos. A contagem diferencial dos leucócitos e análise qualitativa das células sanguíneas foram realizadas por veterinário especializado em patologia clínica com metodologias de rotina, através de microscopia óptica de luz dos esfregaços sanguíneos corados pelo método panótico rápido.

Para as análises bioquímicas de PPT, albumina, ALT, FA, Nitrogênio ureico e creatinina, coletou-se mais 2,0 ml na mesma punção venosa, que foram acondicionados em tubos secos com ativador de coágulo, sob refrigeração de 4°C. O processamento foi realizado no mesmo dia da coleta, por bioquímica colorimétrica do soro sanguíneo, utilizando kits comerciais (Labtest, Brasil) e analisador bioquímico semiautomático (Bioplus 2000 plus, Brasil), conforme as recomendações dos fabricantes. O valor de globulina foi calculado por meio da subtração do valor de albumina do valor de PPT encontrado para o animal.

Parte do soro sanguíneo colhido no momento D-7 foi utilizado para a testagem de FIV e FeIV dos animais do experimento. Para tanto, utilizou-se o kit comercial SNAP Combo Plus (IDEXX Laboratórios LTDA, Brasil) conforme as recomendações do fabricante.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados hematológicos foram analisados estatisticamente utilizando software Python™ através do Teste T de Student com as amostras emparelhadas, comparando as médias das diferenças dos valores obtidos em D -7 com as médias das diferenças de valores de D7, D14, D21 e D28. O cálculo amostral para delineamento estatístico encontra-se no Anexo B.

3 RESULTADOS

3.1 PARÂMETROS FÍSICOS

Durante a infusão endovenosa de CTMs (D0), nenhum dos animais apresentou alteração de padrão respiratório ou vômito. No entanto, todos os animais manifestaram vômito, bradipneia e bradicardia devido à aplicação do sedativo, antes da infusão das CTMs. Ao término da infusão, os animais receberam o reversor do sedativo na dose e via anteriormente citadas e ficaram em observação por período de 8 horas. À medida em que retomavam a consciência, os gatos esboçaram sinais de desconforto e agressividade devido ao estresse

induzido pela manipulação e por estarem fora de seus ambientes regulares. Foi efetuado o acompanhamento visual do padrão respiratório, havendo retorno gradual ao observado inicialmente.

Durante as monitorações semanais de parâmetros físicos do estudo, não foram observadas alterações relevantes referentes à coloração de mucosas e exame de linfonodos em relação ao observado anteriormente (D-7) à aplicação de CTMs. Os parâmetros de FC, FR e TR de cada animal apresentaram variações evidentes quando foram aferidos em um mesmo dia, antes e após a sedação. Em 03 animais, a obtenção destes parâmetros foi incompleta, só tendo sido possível realizar as avaliações clínicas completas após sedação. Devido a este fator, os parâmetros físicos dos animais do estudo não foram submetidos à análise estatística.

Os animais apresentaram evidente diminuição da FC após a sedação, em intensidades diferentes. Apenas uma aferição indicou a manutenção do mesmo valor de batimentos por minuto (BPM) antes e após a sedação em um mesmo dia (Animal 5 em D-7). Estes dados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de frequência cardíaca (BPM) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.

Momento da avaliação	Sedação	D-7	D0	D7	D14	D21	D28
Animal 1	Antes	200	164	152	164	148	140
	Após	100	104	96	100	112	88
Animal 2	Antes	180	170	162	164	168	180
	Após	100	88	80	84	96	80
Animal 3	Antes	184	180	168	200	192	160
	Após	140	116	104	128	120	100
Animal 4	Antes	180	-	-	-	-	-
	Após	130	132	108	132	140	140
Animal 5	Antes	100	124	124	128	128	136
	Após	100	92	72	124	68	96
Animal 6	Antes	168	-	-	-	-	-
	Após	100	92	96	88	96	84
Animal 7	Antes	136	132	136	104	156	136

	Após	128	98	92	96	88	84
Animal 8	Antes	116	112	164	112	164	-
	Após	96	100	104	105	100	100

Quanto ao parâmetro respiratório, quantificado em respirações por minuto (RPM), a maioria dos registros indicou diminuição da FR após a sedação, mas também foi registrada manutenção e elevação da mesma antes e após a sedação, conforme dados constantes na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de frequência respiratória (RPM) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.

Momento da avaliação	Sedação	D-7	D0	D7	D14	D21	D28
Animal 1	Antes	52	52	48	48	52	64
	Após	32	40	36	48	40	40
Animal 2	Antes	68	62	36	72	80	52
	Após	44	48	56	48	52	48
Animal 3	Antes	80	80	60	68	84	80
	Após	68	64	60	60	72	56
Animal 4	Antes	64	-	-	-	-	-
	Após	48	52	44	48	60	52
Animal 5	Antes	48	52	48	52	52	56
	Após	52	44	48	44	32	40
Animal 6	Antes	-	-	-	60	-	-
	Após	32	30	32	28	28	28
Animal 7	Antes	56	44	40	48	36	48
	Após	32	32	40	32	28	32
Animal 8	Antes	60	52	48	56	40	-
	Após	40	36	32	32	36	76

Os registros descritos na Tabela 3, mostram que a temperatura retal não apresentou um padrão de variação. Foi possível a obtenção de dados comparativos antes e após a sedação em 32 momentos. Nos registros em que houve redução da temperatura (12 de 32), observou-se o decréscimo de alguns décimos de graus Célsius, contudo, houve registro de queda intensa, correspondente a 1,7°C no Animal 2 em D7. O valor mais baixo de TR registrada após sedação foi 36,2°C, no Animal 1 em D7. Em 18 dos 32 registros houve elevação da temperatura após a sedação, sendo a maior elevação de 0,8°C (Animal 5 em D21). O Animal 3 em D21 extrapolou o limite superior de referência (REECE, 2006), atingindo 39,6°C após a sedação; este apresentava 39,2°C antes. Em 2 momentos, houve manutenção dos valores de TR antes e após sedação (Animal 5 em D7 e Animal 7 em D21).

Tabela 3. Valores de temperatura retal (°C) dos animais antes e após sedação durante período do estudo.

Momento da avaliação	Sedação	D-7	D0	D7	D14	D21	D28
Animal 1	Antes	37,1	37,2	36,5	37,5	37,3	37,4
	Após	36,7	36,8	36,2	36,9	36,6	37,6
Animal 2	Antes	37,2	38,2	38,3	38,9	38,2	38,6
	Após	38	37,9	36,6	38,7	38,5	37,9
Animal 3	Antes	37,8	38,3	37,8	39	39,2	37,7
	Após	38	38,4	37,5	39,1	39,6	37,9
Animal 4	Antes	38	-	-	-	-	-
	Após	37,5	37,7	36,5	38,3	37,7	38,4
Animal 5	Antes	37,2	36,9	37,3	36,4	37	37,1
	Após	37,5	37,1	37,3	37,2	37,8	36,7
Animal 6	Antes	-	-	-	-	-	-
	Após	37,1	36,9	38,1	36,3	36,7	36,7
Animal 7	Antes	36,8	36,5	37	36,2	36,7	36
	Após	36,9	36,7	37,5	36,5	36,7	36,2
Animal 8	Antes	37,2	-	-	-	-	-
	Após	38	37,2	36,7	37,2	37	36,7

Todos os animais apresentaram vômito dentro de 5 a 10 minutos após a aplicação do sedativo em todas as vezes em que foram submetidos ao procedimento de sedação.

Reunindo os relatos dos tutores a respeito do comportamento de seus animais, apenas um dos gatos apresentou 1 episódio de vômito, seguido de comportamento apático que persistiu por 2 dias; este quadro ocorreu entre D14 e D21 e o animal se recuperou sem nenhuma intervenção terapêutica. Os tutores de 5 animais relataram que estes mostraram-se mais dispostos e apresentaram aumento de apetite ao longo do período de acompanhamento. Antes da conclusão deste estudo, os tutores foram questionados novamente e relataram que os animais seguem sem demonstrar anormalidades cerca de 9 meses após a infusão das CTMs.

3.2 PARÂMETROS LABORATORIAIS

A seguir, estão dispostos gráficos para a visualização dos parâmetros sanguíneos avaliados, onde D0 representa o momento da aplicação das CTMs. As amostras sanguíneas para a realização dos exames foram coletadas em D-7, D7, D14, D21 e D28. Os dados brutos com os valores de todos os exames dos animais encontram-se nos anexos (Anexo D, Anexo E e Anexo F).

Os gráficos das avaliações sanguíneas apontaram que nos parâmetros do hemograma houve redução de hematócrito e hemoglobina (Figura 1) e aparente elevação de hemácias, bastonetes e linfócitos típicos (Figuras 2, 4 e 5) uma semana após a aplicação de CTMs (D7) com posterior redução e tendência de retorno à normalidade no último registro. O gráfico de leucócitos totais (Figura 3) indica menor dispersão dos valores em D7.

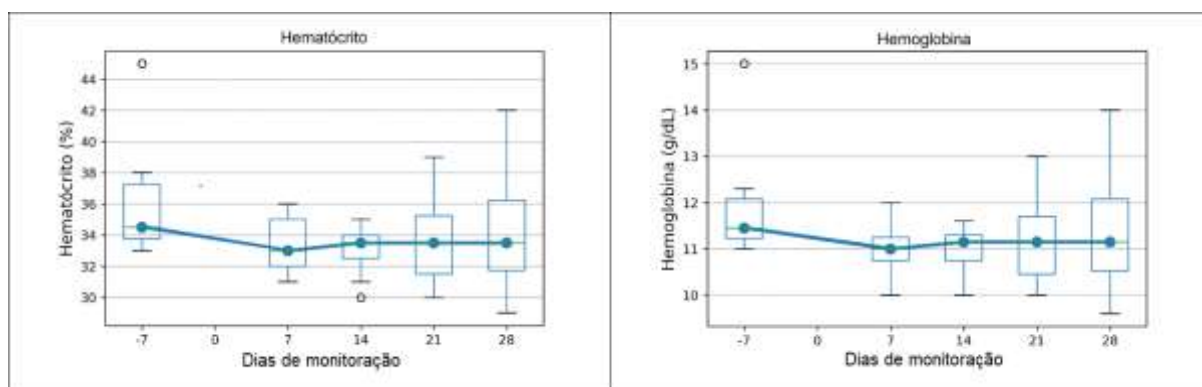


Figura 1 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de hematócrito (à esquerda) e hemoglobina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outliers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

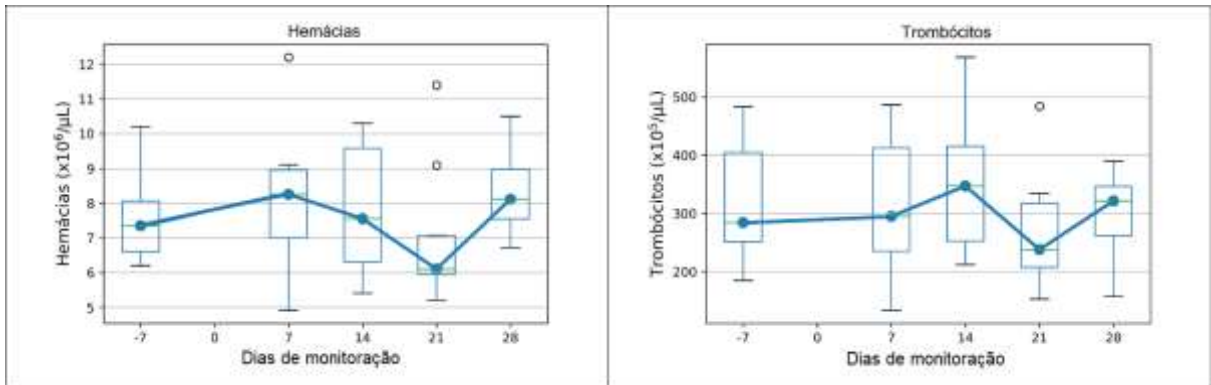


Figura 2 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de hemácias (à esquerda) e trombócitos (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outliers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

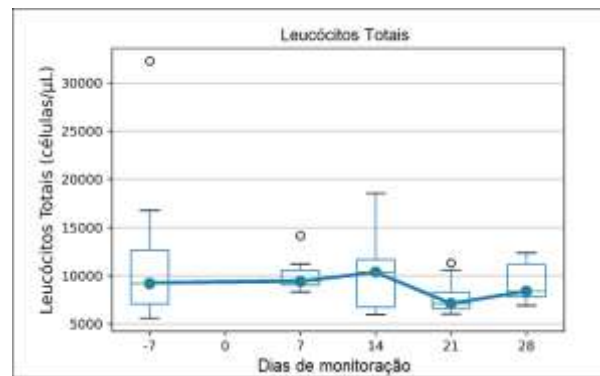


Figura 3 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de leucócitos totais dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outliers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

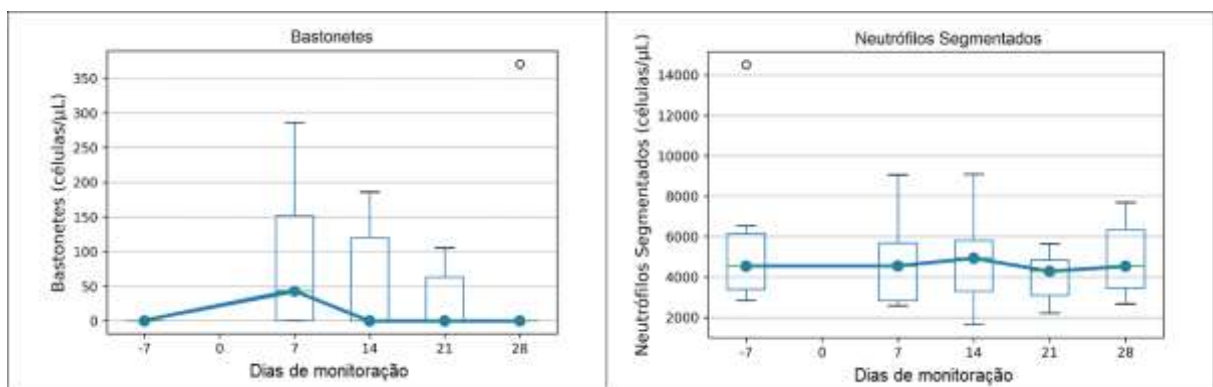


Figura 4 - Amplitude, mediana e quartis dos valores absolutos de neutrófilos bastonetes (à esquerda) e neutrófilos segmentados (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outliers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

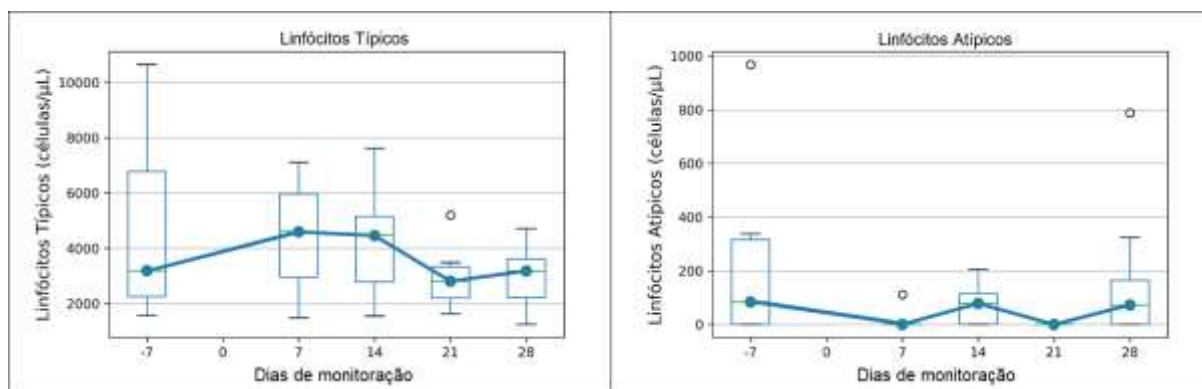


Figura 5 - Amplitude, mediana e quartis dos valores absolutos de linfócitos típicos (à esquerda) e linfócitos atípicos (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outiers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Nos exames bioquímicos, as alterações mais evidentes observadas nos gráficos apontaram para elevação de albumina em D7 e D14 (figura 6), elevação de ALT em D14 (figura 7), elevação de ureia em D21 e redução da creatinina em D7 e D14 (figura 8).

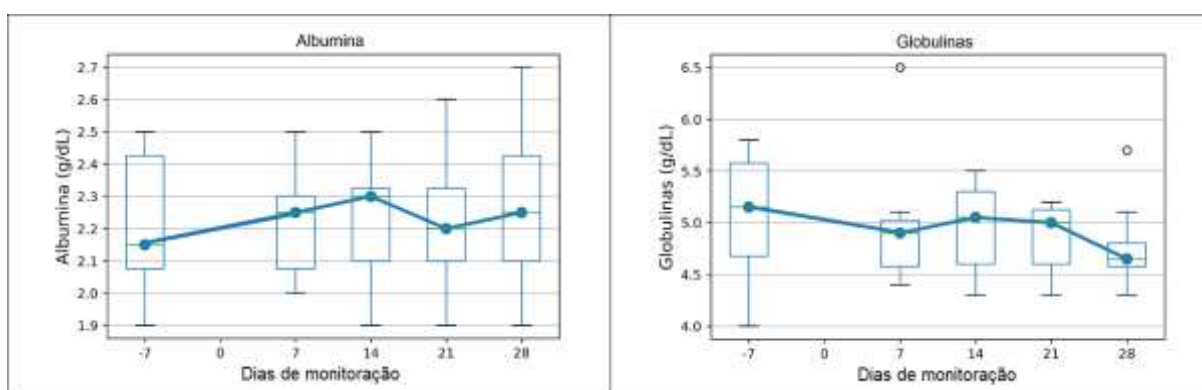


Figura 6 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de albumina (à esquerda) e globulinas (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outiers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

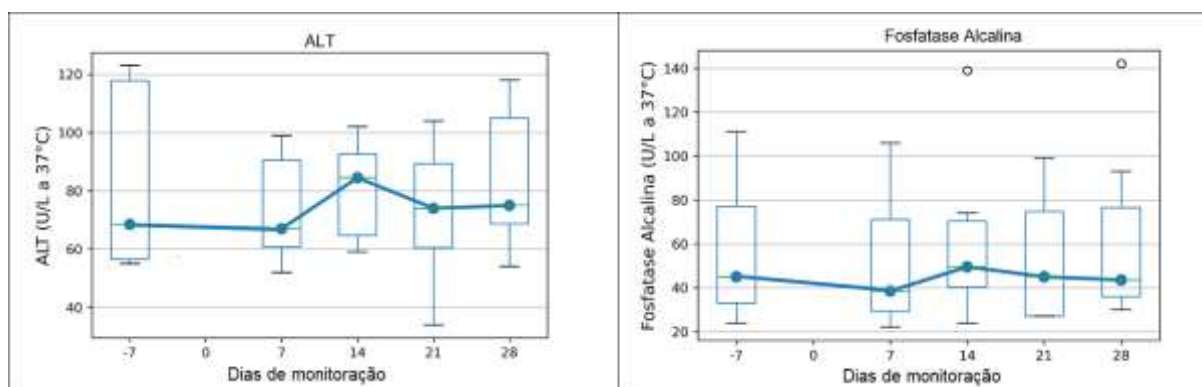


Figura 7 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de ALT (à esquerda) e fosfatase alcalina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outiers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

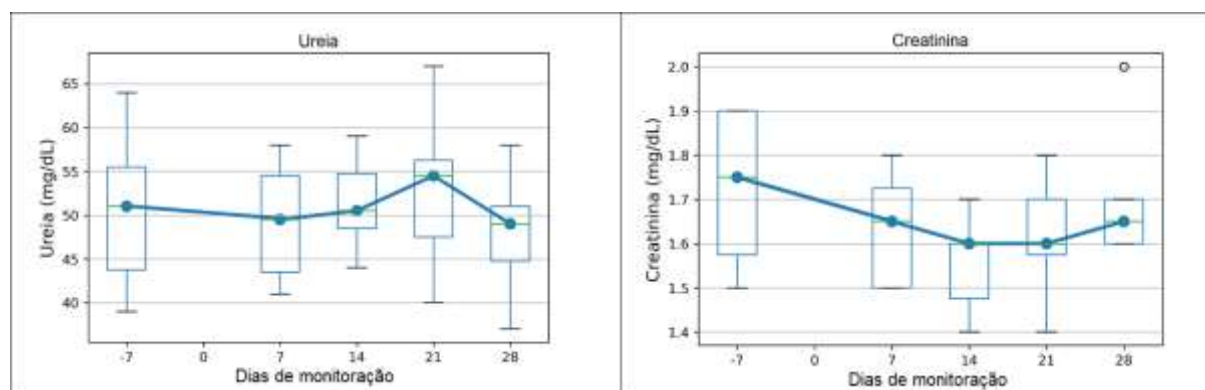


Figura 8 - Amplitude, mediana e quartis dos valores de ureia (à esquerda) e creatinina (à direita) dos gatos antes da aplicação das células-tronco (D-7) e após a aplicação (D7, D14, D21 e D28). ° Indica valores discrepantes (outliers). Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Os gráficos permitem visualizar a distribuição dos valores obtidos, porém se faz necessário considerar também a variância de cada semana. Por isso, foi feita a análise estatística através do teste T de Student que indicou que em D14 o hematócrito apresentou uma redução significativa da média em relação aos níveis observados antes do início do experimento. ($p = 0.045$) (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados da aplicação do Teste T em dados de eritrograma obtidos ao longo do período de estudo.

Parâmetro	D7		D14		D21		D28	
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor
Hemácias	0.910	0.392	0.403	0.698	-0.484	0.642	1.056	0.325
Hematócrito	-1.487	0.180	-2.426**	0.045	-1.434	0.194	-0.819	0.439
Hemoglobina	-1.408	0.201	-2.289*	0.055	-1.219	0.262	-0.708	0.501
Trombócitos	-0.139	0.893	0.577	0.581	-1.324	0.226	-0.611	0.560

** $p < 0.05$, * $p < 0.1$

Como se pode observar nas tabelas 4, 5 e 6, em D21 todos os parâmetros retornaram a níveis próximos aos valores originais. Todos os parâmetros, tanto em D21 quanto em D28, apresentaram valores semelhantes. Portanto, analisando todos resultados conjuntamente, pode-se dizer que apenas o hematócrito apresentou leve redução e apenas em D14 e, nas monitorações seguintes (D21 e D28), os valores retornam aos níveis originais e não se observa nenhuma divergência significativa.

Tabela 5. Resultados da aplicação do Teste t em dados de leucograma obtidos ao longo do período de estudo.

Parâmetro	Dias		D7		D14		D21		D28	
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor
Leucócitos Totais	-0.807	0.445	-0.472	0.651	-1.594	0.154	-0.907	0.394		
Neutrófilos Segmentados	-0.980	0.359	-0.502	0.631	-1.416	0.199	-0.561	0.592		
Linfócitos Típicos	-0.161	0.876	-0.240	0.816	-1.458	0.188	-1.447	0.191		
Linfócitos Atípicos	-1.788	0.116	-1.404	0.203	-1.890	0.101	-0.288	0.781		

** $p < 0.05$, * $p < 0.1$

Tabela 6. Resultados da aplicação do Teste t em dados bioquímicos obtidos ao longo do período de estudo.

Parâmetro	Dias		D7		D14		D21		D28	
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor
Globulina	-0.348	0.737	-0.558	0.593	-0.816	0.440	-1.618	0.149		
Albumina	-1.110	0.999	0.683	0.516	0.142	0.890	0.637	0.544		
Fosfatase Alcalina	-1.992*	0.086	1.096	0.309	-1.142	0.290	1.236	0.256		
ALT	-1.872	0.103	-0.297	0.774	-1.218	0.262	0.146	0.887		
Creatinina	-1.369	0.213	-2.262*	0.058	-1.623	0.148	-0.663	0.528		
Ureia	-0.413	0.691	0.169	0.870	0.807	0.445	-0.756	0.474		

** $p < 0.05$, * $p < 0.1$

4 DISCUSSÃO

A utilização de sedação foi instituída neste experimento devido às dificuldades relacionadas à manipulação, contenção e administração de medidas terapêuticas para felinos devido à sua grande capacidade de desvencilhamento e fuga que, aliadas à considerável possibilidade ocorrência de estresse pode ocasionar acidentes, lesões e terapêutica ineficaz. Como agente sedativo, foi escolhido o cloridrato de dexmedetomidina devido à sua alta especificidade. Ansah et al. (1998), concluíram que o uso deste fármaco em felinos nas doses 25, 50 e 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ induz, de forma dose-dependente, sedação, analgesia e relaxamento muscular de importância clínica. Um estudo mostrou que esse fármaco empregado como

agente único e em dose baixa (5µg/kg IM) produz sedação leve em gatos (CARVALHO et al., 2019), enquanto a dose de 10 µg/kg IM mostrou bons resultados (MENDES, 2003), por isso, no presente estudo optou-se pelo uso de uma dose intermediária de 7,5µg/kg IM. Comparando-se os efeitos da dexmedetomidina isoladamente e de forma associada, optou-se pelo uso isolado da droga devido à sua segurança, mínima interferência nos valores hematológicos analisados, possibilidade ocorrência de excitação pelo uso de outros fármacos que fossem associados e pela indisponibilidade de reversores de outras drogas que poderiam ser associadas à dexmedetomidina. Ao ativar os receptores α -adrenérgicos, este sedativo provoca vasoconstrição profunda, aumentando a resistência vascular sistêmica e induzindo bradicardia reflexa (SINATRA et al., 2011), além de discreta alteração na frequência respiratória (JULIÃO, 2019), conforme foi observado comparando-se as frequências cardíacas e respiratórias de cada animal antes e após a sedação. Outros possíveis efeitos adversos da dexmedetomidina incluem vômito e hipotermia (SINCLAIR, 2003). O vômito ocorreu em todos os animais do presente estudo em todas as vezes em que foram sedados. Gatos são susceptíveis a hipotermia devido a sua alta área de superfície corporal em relação a sua massa (CLARK-PRICE, 2015). No entanto, não foi possível estabelecer um padrão para a variação de temperatura retal frente à sedação, provavelmente devido a algumas variáveis como a temperatura ambiente que teve registros de 17 ° C a acima de 25 ° C. O estresse pode levar à hipertermia e este é outro fator que pode ter influenciado os valores de temperatura retal registrados; alguns animais exibiam mais sinais de tensão nas primeiras coletas e ao longo do estudo foram se habituando à manipulação, enquanto outros animais se apresentaram cada vez mais condicionados negativamente a cada manipulação.

Estudos envolvendo terapia celular apontam para efeitos indesejáveis como trombose pulmonar e migração das CTMs para outro foco de inflamação (HESLOP, 2015). As CTM são atraídas pelo processo inflamatório, onde há uma grande concentração de citocinas pró-inflamatórias e células em apoptose e geram uma resposta a esse microambiente em que estão (SPEES, et al., 2016).

Diversas vias de aplicação de células-tronco são descritas, entre elas a via endovenosa, intra-arterial, subcapsular, intrarrenal (QUIMBY, 2013; SEMEDO, 2009), intraperitoneal (PARYS, 2016). A via endovenosa é a mais utilizada nos tratamentos com CTMs. No entanto, por essa via, grande quantidade de células fica retida nos capilares do pulmão, fígado e baço (HESLOP, 2015), conforme demonstrado através de marcadores radioativos (ARZI, 2017). Esse aprisionamento em capilares pulmonares parece ocorrer devido ao grande tamanho das

CTMs comparado ao diâmetro do lúmen dos capilares. As CTAs aprisionadas nas redes de microcapilares exercem ação parácrina, mas possuem curto tempo de vida. Uma vez administradas, 90% dessas células são perdidas devido ao estresse físico, inflamação, hipoxia ou rejeição imunogênica (ARZI, 2017). A administração em uma artéria nutricia do tecido alvo pode reduzir esses riscos; entretanto, o risco de oclusões microvasculares persiste, pois um grande número de células é necessário para atingir a eficácia terapêutica. O transplante direto ao tecido alvo pode reduzir esses riscos, entretanto pode requerer cirurgia invasiva (HESLOP, 2015). Em ratos foi demonstrado que altas doses de CTMs ($2 \times 10^6/\text{kg}$) e administração rápida por via endovenosa representam um significativo risco de trombose pulmonar devido a sua característica de auto-adesão (LEE et al., 2009).

As manifestações de efeitos colaterais da terapia celular incluem inapetência, respiração ofegante e ptialismo em gatos em até 1 hora após a aplicação endovenosa de CTMs alogênicas de medula óssea com resolução de todas as manifestações em no máximo 3 dias após o procedimento, não sendo observados efeitos colaterais que representem ameaça à vida (Rosselli 2016). Sintomas como náusea, vômito e aumento da frequência respiratória também são relatados durante a administração das CTMs e mostraram-se mais intensos em animais que receberam altas doses por via endovenosa; felinos que receberam infusões de $2 \times 10^6/\text{kg}$ de CTMs criopreservadas não apresentaram efeitos colaterais, enquanto animais que receberam a dose de $4 \times 10^6/\text{kg}$ apresentaram (QUIMBY, 2013). Avaliações sugerem que se a infusão for lenta - no mínimo dentro de 30 minutos – e na dose adequada, a terapia celular é segura (DEAK, 2010).

Com a dose utilizada no presente estudo (1×10^6 células/kg) diluída em ringer com lactato e administrada ao longo de 40 minutos, não houve vômito durante ou imediatamente após a aplicação das CTMs, no entanto, todos os animais apresentaram vômito devido à sedação utilizada. Não foi observado aumento da frequência respiratória, contudo é possível que o efeito de bradipneia promovido pelo agente sedativo tenha influenciado o resultado verificado.

O único relato de manifestações fora do normal durante o acompanhamento dos animais em seus locais de residência foi referente ao episódio isolado de vômito e à apatia que ocorreu em um gato entre D14 e D21. O animal vive em uma casa, e os tutores acreditam que possa ter ocorrido ingestão de alimento inapropriado. O animal se recuperou sem necessidade de medidas terapêuticas, não havendo evidências de comprometimento da segurança da terapia celular associada à sedação.

Os gráficos (Figura 1) apontam para redução momentânea de hematócrito e hemoglobina após a terapia celular, o que foi confirmado, no caso do hematócrito, pelos testes T aplicados. Apesar da redução observada, a literatura demonstra a utilização de células-tronco mesenquimais em animais portadores de anemias de difícil tratamento (BRAGA, 2020). Além disso, é preciso levar em consideração que esses parâmetros podem ser influenciados por fatores individuais, como a hidratação dos animais. Gatos são animais bastante seletivos para a ingestão de água e podem não ingerir o volume recomendável. No entanto, pode-se supor que os animais do estudo estivessem mais dispostos devido ao efeitos anti-inflamatórios da terapia celular, visto que os tutores relataram aumento de apetite, o que poderia deixar os animais mais predispostos à ingestão de água, influenciando a redução dos valores de hematócrito. Nenhum dos animais apresentou valores de hematócrito abaixo da referência (WEISS, 2010) e, após o declínio, ocorreu ascensão com tendência ao restabelecimento dos valores aos seus níveis iniciais, indicando que a redução momentânea do hematócrito é um ponto que necessita de atenção durante o acompanhamento de tratamento com CTMs, mas não torna essa terapia contraindicada.

A análise dos dados mostrou uma redução estatisticamente não significativa dos níveis de creatinina. No entanto, a redução de valores desse parâmetro é um ponto de interesse na medicina felina devido aos recorrentes quadros de insuficiência renal. Essa redução observada é citada na literatura em animais com doença renal devido aos potentes efeitos anti-inflamatórios e antifibróticos das CMTs que podem melhorar indiretamente a função renal por reduzirem inflamação e fibrose associadas à doença através de efeitos parácrinos (MALARD, 2020; LEE et al., 2010). Contudo, os valores de creatinina devem ser analisados com cautela, pois a creatinina não é o parâmetro mais sensível para a medida de função renal e vários fatores não relacionados à função renal podem influenciar seus valores séricos, incluindo massa muscular e hidratação. Além disso, mudanças na função renal podem ocorrer sem alteração concomitante da concentração da creatinina (BAXMANN et al., 2008).

Apesar dos potenciais riscos relatados e cuidados necessários que foram considerados durante a execução do presente estudo, a administração endovenosa de CTMs parece proteger os tecidos. Este efeito benéfico pode ser atribuído aos fatores anti-inflamatórios produzidos por ação parácrina. Estes fatores - hemeoxigenase-1 (HO-1), prostaglandina E2, indoleamine 2,3-dioxigenase (IDO2,3), e interleucina (IL)-10 (Semedo, 2009) -apresentam baixa expressão do complexo de histocompatibilidade maior (MHC) classe I e não expressam MHC classe II. O MHC classe I presente na superfície celular dos linfócitos T citotóxicos e CD8+ é

responsável por reconhecer antígenos de células e tecidos transplantados e o MHC classe II, presente em células apresentadoras de antígenos – macrófagos, linfócitos B e células dendríticas (ICHIRYU, 2013). Dessa forma, a baixa expressão de MHC, aponta favoravelmente para a utilização de CTMs em transplantes alogênicos, possuindo poucas complicações relacionadas (RINGDÉN et al., 2006) e está em conformidade com os resultados obtidos.

Todos os esforços foram feitos para diminuir a variabilidade entre as avaliações. Estas foram feitas no mesmo dia da semana, no mesmo horário do dia, com o mesmo protocolo de sedação e com os mesmos executores. Entretanto, não é possível descartar o potencial de variabilidade entre os animais ou mesmo as variações diárias na fisiologia de cada indivíduo. É preciso levar-se em consideração que foi utilizado um grupo de animais sujeitos a diferentes condições de manejo por seus tutores, além da possível influência do estresse e da sedação sobre os resultados observados. Apesar dos efeitos registrados ocasionados pela ação do sedativo, não foram observadas alterações que indiquem que a sedação não é segura para a realização de terapia celular.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou a resposta fisiológica de gatos saudáveis à aplicação de células-tronco mesenquimais alogênicas mediante sedação com cloridrato de dexmedetomidina. O acompanhamento das variações dos parâmetros físicos e exames laboratoriais dos animais mostra redução momentânea do hematócrito com manutenção dos valores dentro da referência, o que aponta para a segurança de utilização de CTMs alogênicas criopreservadas em felinos por infusão endovenosa lenta na dose estabelecida, utilizando-se sedação através do uso de Cloridrato de Dexmedetomidina. Diferentes doses e vias de administração de células-tronco resultam em diferentes riscos para o paciente. Com o objetivo de superar esses obstáculos para tratamento é necessária a obtenção de CTMs de fontes idôneas com bons sistemas de controle de qualidade, protocolos padronizados para cultura e diferenciação das células, expansão e criopreservação. Ademais, os estudos já realizados indicam que o risco de efeitos colaterais talvez esteja mais relacionado a um grande número de células infundidas em um curto espaço de tempo. Novos estudos, com maior tempo de acompanhamento e utilizando grupos-controle podem trazer novas informações úteis à terapia celular em felinos.

REFERÊNCIAS

- ANSAH, O. B.; RAEKALLIO, M.; VAINIO O. Comparison of three doses of dexmedetomidine with medetomidine in cats following intramuscular administration. *J. vet. Pharmacol. Therap.* v. 21, p. 380-387, 1998.
- ARZI, B.; CLARK, K.; SUNDARAM, A.; SPRIET, M.; VERSTRAETE, F.; WALKER, N.; LOSCAR, M.; FAZEL, N.; MURPHY, W; VAPNIARSKY, N.; BORJESSON, D. Therapeutic efficacy of fresh, autologous mesenchymal stem cells for severe refractory gingivostomatitis in cats. **Stem cells translational medicine**, v. 5, n. 1, p. 75-86, 2016.
- BYDLOWSKI, Sergio P.; DEBES, Adriana A.; MASELLI, Luciana M. F.; JANZ Felipe L. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, v. 31, supl.1, p. 25-35, mai 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151684842009000700006&lng=en&nrm=iso. Acesso em :16 Jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842009005000038>.
- BAXMANN, A.; AHMED, M.; MARQUES, N.; MENON, V.; PEREIRA, A.; KIRSZTAJN, G.; HEILBERG I. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C. **Clin J Am Soc Nephrol**, n. 3, p. 348–354, 2008
- BRAGA C. L.; SANTOS, E.J.C. Terapia celular com células-tronco no tratamento da aplasia medular secundária a doença renal crônica. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**; v. 4, ed. 50, p.126-132, 2020.
- CARVALHO, E.; CHAMPIONA, T.; AMBROSINIA, F.; SILVA, G.; FREITAS, G.; VILANI, R. Dexmedetomidine low dose followed by constant rate infusion and antagonism by atipamezole in isoflurane-anesthetized cats: an echocardiographic study. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 46, p. 43-54, 2019, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.09.040>
- CLARK-PRICE, S. Hipotermia perianestésica inadvertida em pequenos animais. **Clínicas Veterinárias: Prática para pequenos Animais**, v. 45, n. 5, p. 983-994, 2015.
- CHUNG, D.; HAYASHI, K.; TOUPADAKIS, C. .; WONG, A.; YELLOWLEY, C. Osteogenic proliferation and differentiation of canine bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stromal cells and the influence of hypoxia. **Research in Veterinary Science**, v. 92 n. 1, p. 66–75, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.012>
- DEAK, E.; RÜSTER, B.; KELLER, L.; ECKERT, K.; FICHTNER, I.; SEIFRIED, E.; HENSCHLER, R. Suspension Medium Influences Interaction of Mesenchymal Stromal Cells with Endothelium and Pulmonary Toxicity after Transplantation In Mice. **Cytotherapy**, v. 12, p. 260–264, 2010.
- DIAS, I.E.; PINTO, P. O.; BARROS, L. C.; VIEGAS, C. A.; DIAS, I. R.; CARVALHO, P. P. Mesenchymal stem cells therapy in companion animals: useful for immune-mediated diseases? **BMC Vet Res**, v. 15, n. 1, p. 358, 22 out. 2019. DOI: 10.1186/s12917-019-2087-2. PMID: 31640767; PMCID: PMC6805418.
- FEITOSA, Francisco Leydson F. **Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico** . São Paulo: Roca, 3ed., 2014.

HESLOP, J. et al. Concise Review : workshop Review: understanding and assessing the risks of stem cell-based therapies. **Stem Cells Transl Med.**, v.4 p. 389–400, 2015

ICHIRYU, N.; FAIRCHILD, P. J. Immune privilege of stem cells. **Embryonic Stem Cell Immunobiology: Methods and Protocols**, p.1-16, 2013.

JIMÉNEZ, A.; GUERRERO, F. Células madre mesenquimales como nueva terapia en dermatología: conceptos básicos. **Rev Clínica Dermatología Vet.**, n. 9, p. 8–18, 2017.

JULIÃO, G. H.; ABIMUSSI, C. J. X. Uso de dexmedetomidina em Medicina Veterinária: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 17, n. 1, p. 26-32, 8 mai. 2019.

KANEKO, Jiro Jerry; HARVEY, John W.; BRUSS, Michael L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 2008.

KLINKHAMMER, B et al. Mesenchymal Stem Cells from Rats with Chronic Kidney Disease Exhibit Premature Senescence and Loss of Regenerative Potential. **Plos One**, v. 9, mar. 2014.

LEE, R. et al. Intravenous hMSCs Improve Myocardial Infarction in Mice because Cells Embolized in Lung Are Activated to Secrete the Anti-inflammatory Protein TSG-6. **Cell Stem Cell**, Elsevier Inc., v. 5, p. 54–63, 02 jul. 2009.

LEE, S.R.; LEE, S. H.; MOON, J.; PARK, J.; LEE, D.; LIM. S.; JEONG, K.; LEE, T.; IHM, C. Repeated administration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improved the protective effects on a remnant kidney model. **Ren Fail** n. 32, p. 840–848, 2010. PMID: **20662698**. DOI: [10.3109/0886022X.2010.494803](https://doi.org/10.3109/0886022X.2010.494803).

MACHADO, L. S.; SOUZA, A. F.; PIERI, N. C.; BOTIGELLI, R. C.; RECCHIA, K.; MARTINS, D.; MEIRELLES, F.; ANDRADE, A. BRESSAN, P. Células-tronco pluripotentes induzidas (células iPS) em animais domésticos e a possibilidade de geração in vitro de gametas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.42, n.3-4, p.114-119, jul./dez. 2018. Disponível em [http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v42/n3-4/p114-119%20\(RB746\).pdf](http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v42/n3-4/p114-119%20(RB746).pdf). Acesso em: 7 jan. 2020.

MALARD, P.; PEIXER, M.; SANTANA, L.; DALLAGO, S.; MILISETD, M.; QUEIROZ, L.; BRUNEL, H. Avaliação da terapia com células-tronco mesenquimais halógenas em doença renal crônica de cães e gatos. **Pubvet**. v.14, n. 11, a700, p. 1-8, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n11a700.1-8>

MARÇOLA, T. G. Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e co-infecções em felinos domésticos de diferentes localidades do Distrito Federal. Brasília, 2011, 67 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília

MENDES, G.M., SELMI, A.L.; BARBUDO-SELM, G.R.; LINS, B. T.; FIGUEIREDO, J.P. Clinical use of dexmedetomidine as premedicant in cats undergoing propofol-sevoflurane anaesthesia. **J. Feline Med. Surg.**, v. 5, p. 265-270, 2003. DOI: 10.1016/S1098-612X(03)00053-6

MURRELL, J. C.; HELLEBREKERS, L. J. Medetomidine and dexmedetomidine: a review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, Davis, v. 32, n. 3, p. 117-127, 2005.

OLIVEIRA, C. D.; VIEIRA, S.; SOUZA, F. dos S. L.; OLIVEIRA, F. T.; MATTOS, V. Z.; MARINS, A. L. C.; MOURA, S. M. Stemcell therapy for cardiology: a new path to humanity and a new care for nurse-a case report. **Online Brazilian Journal of Nursing**, v. 4 n.1, p. 2–8, 18 abr. 2005. DOI <https://doi.org/10.17665/1676-4285.20054783>

PARYS, M.; NELSON, N; KOEHL, K.; MILLER, R.; KANEENE, J.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. Safety of Intraperitoneal Injection of Adipose Tissue-Derived Autologous Mesenchymal Stem Cells in Cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 30, n. 1, p. 157-163, 2016.

QUIMBY, Mesenchymal stem cell therapy in cats: Current knowledge and future potential. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, n. 20, p. 208-216, 2018. DOI: 10.1177/1098612X18758590.

QUIMBY, Jessica M. et al. Safety and efficacy of intravenous infusion of allogeneic cryopreserved mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: results of three sequential pilot studies. *Stem cell research & therapy*, v. 4, n. 2, p. 1-12, 2013.

RECHE JUNIOR, Archivaldo. **Medicina Veterinária de Felinos: um mercado em crescimento [Entrevista]**. VetNet News. Florianópolis: NetVet. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=rFPQ9axwLtc>. Acesso em: 22 mai. 2022., 2018

REECE, W. O.; **Dukes-Fisiologia dos Animais Domésticos** 12.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.

RINGDÉN, O. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. **Transplantation**, v. 81, n. 10, p. 1390-1397, 27 mai 2006. DOI: [10.1097/01.tp.0000214462.63943.14](https://doi.org/10.1097/01.tp.0000214462.63943.14)

ROSSELLI, D.; MUMAW, J.; DICKERSON, V.; BROWN, C.; BROWN, S.; SCHMIEDT. Efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell administration in a model of acute ischemic kidney injury in cats. *Research in Veterinary Science*, n. 108, p. 18–24, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.07.003>

SEMEDO, P.; et al. Mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis through immune modulation and remodeling properties in a rat remnant kidney model. **Stem Cells**, n. 27, p. 3063–3073, 2009.

SILVA JÚNIOR, F.C.; ODONGO F.; DULLEY, F. L. Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, n. 31, p. 53-58, mai. 2009.

SINCLAIR, M. D. A review of the physiological effects of α_2 -agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. **Canadian Veterinary Journal**, v.44, p.885-897, 2003.

SPEES, J.L.; LEE, R.H.; GREGORY, C.A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. **Stem Cell Res Ther.**, v. 7, n. 125, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0363-7>

TAYLOR, C. Pet health care costs rise as cats and dogs live longer than ever. **Time**. 13 set 2016. Disponível em: <http://time.com/money/4490014/pet-health-costs-rise/>. Acesso em: 23 fev. 2022.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed., Wiley-Blackwell, 2010

ZAKREWSKI, W.; DOBRZNSKI, M.; SZYMONOWICZ, M.; RYBAK, Z. Stem cells: past, present, and future. **Stem Cell Research & Therapy**, p.10-68, 26 fev. 2019. DOI: 10.1186/s13287-019-1165-5. PMID: 30808416; PMCID: PMC6390367.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO EXPERIMENTO PELA CEUA DA FACISA.

The logo for Faculdade de Ciências da Saúde de Unai (FACISA) features the word "FACISA" in a bold, sans-serif font. Below it, in a smaller font, is "FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE UNAI".

The logo for the Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) features the letters "CEUA" in a large, bold, sans-serif font. Below it, in a smaller font, is "Comissão de Ética no Uso de Animais" and "FACISA/Unai".

Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificamos que o projeto intitulado, **"AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE GATOS APÓS APLICAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALOGÊNICAS"** protocolado sob o número 009/2021, utilizando **08** animais, sob a responsabilidade do **Prof. Luiz Gustavo Piroli Cabral**, foi referenciado em **26/11/2021** e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciência da Saúde de Unai.

Unai, 27 de novembro de 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Julio", is written over a horizontal line.

Prof. Me. Julio César da Cunha
Vice-Presidente

ANEXO B – MODELO DE TCLE ASSINADOS PELOS TUTORES DOS ANIMAIS**TERMO DE ASSENTIMENTO**

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) da pesquisa “Avaliação de parâmetros sanguíneos de gatos após aplicação de células-tronco mesenquimais alogênicas”.

Queremos saber sobre a segurança da aplicação endovenosa de células-tronco mesenquimais em gatos sem manifestações clínicas de doenças.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir. A pesquisa será feita da seguinte forma: os animais serão submetidos a exame físico e coleta de sangue para realização de exames uma vez por semana, durante 5 semanas. Na primeira semana, após os resultados dos exames físicos e laboratoriais, os animais receberão aplicação de células-tronco por injeção intravenosa. Após a aplicação, os animais ficarão em observação por 2 horas. Durante o estudo, os tutores terão um número de telefone para contato caso haja alguma intercorrência. Serão feitos registros escritos de dados dos animais, incluindo nome, espécie, raça, sexo, peso, idade, resenha da avaliação clínica, fotografias dos animais e nome, endereço e telefone dos tutores.

Essa pesquisa apresenta a possibilidade de reações adversas relatadas em uma mínima porcentagem de animais em estudos semelhantes que incluem apatia no dia seguinte à aplicação e perda de peso dias após a aplicação, mas com posterior recuperação. A manipulação e punção venosa em alguns animais podem causar níveis diferentes de estresse dependendo do animal.

Como possível efeito benéfico, as células-tronco podem ajudar a combater doenças já instaladas, mas que ainda não promoveram alterações para serem detectadas nos exames de triagem.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas. Os resultados da pesquisa serão divulgados em eventos científicos e publicados em revistas, mas sem identificar quem participou da pesquisa. Se você tiver alguma dúvida, você pode perguntar.

Declaro que recebi uma cópia deste termo e que entendi para que essa pesquisa será feita e como vou participar dela, assim como as consequências positivas e negativas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que é um direito meu, a qualquer momento, dizer “não” e desistir, sem nenhum problema por conta disso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa.

ASSINATURA DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

_____ de _____ de 20____

Atesto que expliquei, cuidadosamente, a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante. Acredito que o participante tenha recebido todas as informações necessárias, fornecidas em linguagem adequada e compreensível.

Luiz Gustavo Piroli Cabral – CRMV MG 10877

_____ de _____ de 20_____

ANEXO C – CÁLCULO AMOSTRAL PARA DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Valores calculados com os dados de entrada

Desvio padrão: **6.4200**
 Diferença a ser detectada: **11.4000**
 Nível de significância: **1%**
 Poder do teste: **90%**
 Teste de hipótese: **monocaudal**
 Tamanho da amostra calculado para cada grupo: **8**

Para outros valores do nível de significância e poder do teste temos:

Nív. de signif.	Poder do teste	Tam. amostra p/ grupo
1%	65%	5
1%	70%	5
1%	75%	6
1%	80%	6
1%	85%	7
1%	95%	10
0.1%	90%	12
5%	90%	5
10%	90%	4

ANEXO D – VALORES DOS ERITROGRAMAS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.

Hemácias (milhões/mm)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	6,7	7,8	10,2	6,9	6,2	8,09	8,05	6,3
D7	5,8	4,9	12,2	8,2	8,9	8,3	9,1	7,4
D14	8,2	9,8	9,5	10,3	6,9	5,4	6,4	6,03
D21	6,09	6,4	5,2	6,1	11,4	6,1	5,5	9,09
D28	6,89	6,71	7,93	9,52	10,5	8,29	8,8	7,76
Hematócrito (%)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	35	34	45	38	33	37	33	34
D7	33	32	31	35	35	32	36	33
D14	33	34	34	35	34	33	31	30
D21	34	36	32	39	35	33	30	30
D28	29	34	32	37	36	33	42	31
Hemoglobina (g/dL)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	11,6	11,3	15	12	11	12,3	11	11,3
D7	11	10	10	11	12	11	12	11
D14	11	11,3	11,3	11,6	11,3	11	10	10
D21	11,3	12	10,6	13	11,6	11	10	10
D28	9,6	11,3	10,6	12,3	12	11	14	10,3
Volume Corpuscular Médio (fL)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	53,22581	53,15615	52,23881	58,92857	45,73548	40,99379	40,99379	43,58974
D7	39,32584	43,58974	44,11765	55,07246	53,22581	45,73548	39,56044	53,96825
D14	56,89655	65,30612	25,40984	42,68293	39,32584	38,55422	48,4375	44,59459
D21	30,70175	61,53846	55,82923	33,0033	54,09836	54,54545	54,54545	56,25
D28	55,82923	56,25	42,08999	63,93443	39,807	47,72727	47,72727	33,0033

Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (%)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	33,14286	33,23529	33,33333	31,57895	33,33333	33,24324	33,33333	33,23529
D7	33,33333	31,25	32,25806	31,42857	34,28571	34,375	33,33333	33,33333
D14	33,33333	33,23529	33,23529	33,14286	33,23529	33,33333	32,25806	33,33333
D21	33,23529	33,33333	33,125	33,33333	33,14286	33,33333	33,33333	33,33333
D28	33,10345	33,23529	33,125	33,24324	33,33333	33,33333	33,33333	33,22581
Trombócitos (milhares/mm)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	382,5	277,5	210	265	291	483	472	184,5
D7	257	390	133	295	169	295	478	486
D14	226	295	261	212	568	442	399	406
D21	220	183	256	153	216	484	312	334
D28	279	211	157	348	346	304	390	339

ANEXO E – VALORES BIOQUÍMICOS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.

Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	7,2	6	8,2	7	7,6	7,6	8,3	6,5
D7	7,4	6,4	6,8	7,4	8,8	6,6	7,2	7
D14	7,6	6,8	7,8	6,6	7,4	7,2	6,8	7,2
D21	7,4	6,6	7	7,8	7,2	7	6,8	7
D28	6,6	6,8	7	7	6,8	7	8,4	6,8
Albumina (g/dL)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	2,5	2	2,4	2,2	2,1	2,1	2,5	1,9
D7	2,5	2	2,2	2,3	2,3	2,1	2,3	2
D14	2,4	2,1	2,3	2,3	2,1	2,3	2,5	1,9
D21	2,2	2,3	2,4	2,6	2,1	2,1	2,2	1,9
D28	2,3	2,1	1,9	2,5	2,2	2,4	2,7	2,1
Globulinas (g/dL)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	4,7	4	5,8	4,8	5,5	5,5	5,8	4,6
D7	4,9	4,4	4,6	5,1	6,5	4,5	4,9	5
D14	5,2	4,7	5,5	4,3	5,3	4,9	4,3	5,3
D21	5,2	4,3	4,6	5,2	5,1	4,9	4,6	5,1
D28	4,3	4,7	5,1	4,5	4,6	4,6	5,7	4,7
ALT (U/L)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	117	123	69	57	68	55	55	120
D7	95	99	62	66	68	52	57	89
D14	102	100	59	82	87	61	66	90
D21	99	104	50	86	73	34	64	75
D28	117	101	54	118	75	69	68	75

FA (U/L)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	77	33	41	33	24	77	111	49
D7	69	27	30	22	33	77	106	44
D14	69	38	44	24	41	74	139	55
D21	77	41	27	27	27	74	99	49
D28	71	30	38	30	38	93	142	49
Ureia (U/L)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	64	55	44	55	43	47	57	39
D7	54	56	42	58	46	41	44	53
D14	50	54	44	51	44	57	50	59
D21	54	55	40	67	43	49	60	55
D28	50	48	37	58	41	50	46	54
Creatinina (U/L)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	1,5	1,6	1,5	1,8	1,9	1,9	1,7	1,9
D7	1,5	1,7	1,7	1,5	1,8	1,8	1,5	1,6
D14	1,5	1,7	1,6	1,6	1,6	1,4	1,4	1,6
D21	1,5	1,4	1,8	1,7	1,7	1,6	1,6	1,6
D28	1,6	1,7	1,6	1,7	1,7	2	1,6	1,6

ANEXO F – VALORES DOS LEUCOGRAMAS DOS ANIMAIS OBTIDOS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.

	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	32250	10300	16750	5550	11250	8050	6250	0
D7	14150	9250	8300	0	11200	8650	9150	0
D14	5950	6850	6400	0	11400	18550	11500	0
D21	10550	7500	6800	0	11300	6750	6150	0
D28	8650	7850	8100	0	12350	11150	11250	0
Bastonetes – Valor Relativo (%)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	0	0	0	0	0	0	0	0
D7	1	0	0	3	0	1	2	0
D14	2	0	0	2	0	0	0	1
D21	1	0	1	0	0	0	1	0
D28	0	0	0	0	3	0	0	0
Bastonetes – Valor Absoluto (/mm³)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	0	0	0	0	0	0	0	0
D7	141,5	0	0	286,5	0	86,5	183	0
D14	119	0	0	186	0	0	0	122
D21	105,5	0	68	0	0	0	61,5	0
D28	0	0	0	0	370,5	0	0	0

Neutrófilos Segmentados – Valores Relativos (%)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	45	33	36	51	58	63	64	46
D7	64	31	33	64	33	64	59	25
D14	56	24	50	57	40	49	52	47
D21	53	56	44	59	50	68	51	37
D28	49	34	44	70	55	69	55	41

Basófilos – Valores Absolutos (/mm ³)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	0	0	0	0	0	0	0	0
D7	0	0	0	0	0	0	0	0
D14	0	0	0	0	0	0	0	0
D21	0	0	0	0	0	0	0	0
D28	0	0	0	0	0	0	0	0
Monócitos – Valores Relativos (%)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	4	1	3	1	2	3	0	1
D7	2	0	1	0	1	2	0	0
D14	1	0	4	1	1	1	1	1
D21	2	1	3	0	1	0	1	0
D28	3	0	1	2	7	4	1	1
Monócitos – Valores Absolutos (/mm ³)								
	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8
D-7	1290	103	502,5	55,5	225	241,5	0	73,5
D7	283	0	83	0	112	173	0	0
D14	59,5	0	256	93	114	185,5	115	122
D21	211	75	204	0	113	0	61,5	0
D28	259,5	0	81	138	864,5	446	112,5	76,5