

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE  
MEDICINA VETERINÁRIA**

Jamile Amaral Hasan

**TRANSFUSÃO DE CÉLULAS DERIVADAS DA FRAÇÃO TOTAL DE CÉLULAS  
NUCLEADAS DA MEDULA ÓSSEA EM UM CANINO COM TROMBOCITOPENIA  
PERSISTENTE**

Santa Maria, RS  
2022

**Jamile Amaral Hasan**

**TRANSFUSÃO DE CÉLULAS DERIVADAS DA FRAÇÃO TOTAL DE CÉLULAS  
NUCLEADAS DA MEDULA ÓSSEA EM UM CANINO COM TROMBOCITOPENIA  
PERSISTENTE**

Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Especialização em Medicina Veterinária – Área de concentração em Patologia Clínica.**

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Krause

Santa Maria, RS  
2022

**Jamile Amaral Hasan**

**TRANSFUSÃO DE CÉLULAS DERIVADAS DA FRAÇÃO TOTAL DE CÉLULAS  
NUCLEADAS DA MEDULA ÓSSEA EM UM CANINO COM TROMBOCITOPENIA  
PERSISTENTE**

Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Especialização em Medicina Veterinária – Área de concentração em Patologia Clínica.**

**Aprovado em 18 de fevereiro de 2022**

---

**Alexandre Krause, Doutor (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Leonardo Gaspareto dos Santos, Mestre. (UFSM)**

---

**Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho, Doutor (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2022

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente a uma amiga que dividia o mesmo sonho de ser residente, que se esforçou e se dedicou, mas que tinha uma missão maior em outro plano para realizar. Dedico aos meus pais e irmãos que me apoiam e que demostram todo o orgulho que sentem em uma minha trajetória, amo muito vocês. Dedico aos amigos que adquiri durante essa trajetória Alana, Bernardo, Bruna, Carolina, Gabriela e Jéssica, vocês foram essenciais durante esses dois anos, todos vocês tem uma parte muito importante de mim. Por fim um agradecimento especial a todos os professores que participaram desse percurso e a todos os mestrandos e doutorandos do LACVET pelos ensinamentos e aprendizados teóricos e práticos, saio uma profissional mais preparara e qualificada graças à passagem de vocês na minha vida acadêmica e pessoal.

## RESUMO

Monografia de Especialização Programa de Pós-Graduação em Residência Médico-Veterinária Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **TRANSFUSÃO DE CÉLULAS DERIVADAS DA FRAÇÃO TOTAL DE CÉLULAS NUCLEADAS DA MEDULA ÓSSEA EM UM CANINO COM TROMBOCITOPENIA PERSISTENTE**

AUTOR: Jamile Amaral Hasan

ORIENTADOR: Alexandre Krause

Local e data da defesa: Santa Maria, 18 de fevereiro de 2022

As células-tronco mesenquimais têm sido estudadas na terapia de diversas doenças, por apresentarem atividade imunomoduladora, angiogênica e atuarem na reparação tecidual. Este trabalho como objetivo relatar o uso de células derivadas da fração total de células nucleadas da medula óssea (BMSCs) em uma cadela com trombocitopenia responsiva a corticoide. A paciente foi atendida no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e recebeu o diagnóstico de epilepsia idiopática, e foi tratada com fenobarbital na dose de 2.5mg/kg, contínuo, em monoterapia. Ao retorno, sete meses depois, foi observada trombocitopenia severa (15.000/ $\mu$ L). Foram realizados ainda a pesquisa de hemoparasitas, ultrassonografia e mielograma para investigar diagnósticos diferenciais. Apesar de haver relatos do uso de fenobarbital em associação com discrasias sanguíneas, incluindo a trombocitopenia, sua administração não foi interrompida devido à gravidade do quadro epiléptico. Foi incluída prednisolona na dose de 2mg/kg, com discreta resposta na contagem plaquetária (58.000/ $\mu$ L). Com o objetivo de reduzir a dose de corticoide, foram realizadas três transfusões de BMSCs, por via venosa, na dose de  $2,5 \times 10^6$  células/kg. Obteve-se efeito positivo após a terapia celular com o aumento significativo da contagem plaquetária circulante, embora a mesma tenha sido transitória (de sete a trinta dias, aproximadamente). Na obrigatoriedade do uso de drogas mielotóxicas, é possível que o uso concomitante da terapia celular seja benéfico para reduzir seus efeitos sobre a hematopoiese. A terapia com BMSCs é promissora no tratamento da trombocitopenia imunomediada e conclui-se que seu uso proporcionou um aumento transitório na contagem plaquetária e que estudos complementares são necessários para o estabelecimento da dose e do número de aplicações. É necessária a avaliação dos efeitos da terapia celular nos casos de trombocitopenia imunomediada sem a interferência de outras drogas.

**Palavras-chave:** mielotoxicidade; mielograma; trombograma, trombocitopenia imunomediada.

## ABSTRACT

Monograph of Expertise Post-Graduation Program in Veterinary Residence Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **TRANSFUSION OF CELLS DERIVED FROM THE TOTAL NUCLEATED CELL FRACTION OF BONE MARROW IN A CANINE WITH PERSISTENT THROMBOCYTOPENIA**

AUTHOR: Jamile Amaral Hasan

ADVISOR: Alexandre Krause

Place and Date of Presentation: Santa Maria, February 18th , 2022

Mesenchymal stem-cells have been studied for therapy of various diseases, by their immunomodulatory, angiogenic properties. This report aims to describe the use of cells derived from the total fraction of bone marrow nucleated cells (BMSCs) in a female dog with prednisone-responsive thrombocytopenia. The patient was admitted at the Veterinary Teaching Hospital (VTH) of the Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) and was diagnosed with idiopathic epilepsy. She received phenobarbital 2,5 mg/kg SID. After seven months, the patient returned for control and a severe thrombocytopenia was observed (15,000/ $\mu$ L). Tests for hemoparasites, abdominal ultrasound and bone marrow examination were performed in order to investigate differential diagnosis. Although phenobarbital is associated to blood dyscrasias, the treatment could not be suspended, due to the severity of the epilepsy. Prednisone was added to the treatment (2 mg/kg, SID), and a mild response was seen in platelet count (58,000/ $\mu$ L). In order to decrease prednisone,  $2,5 \times 10^6$  BMSCs were intravenously injected three times with an interval of 27 and 60 days. A positive effect was observed with a significant increase in platelet count, although this increase remained for 7 to 30 days. It is possible that cell therapy could be beneficial when myelotoxic drugs are used. Therapy with BMSCs is a promising alternative in the treatment of immune-mediated thrombocytopenia (ITP) and we conclude that their use resulted in a transitory increase in platelet counts and, therefore, further studies are needed to determine dosage, number of transfusions. The effects of cell therapy in ITP should be analysed without the interference of other drugs.

**Key-words:** myelotoxicity; myelogram; thrombogram, immune-mediated thrombocytopenia.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Hemogramas realizados no período pré-transfusão de células derivadas da fração total de células nucleadas da MO em um canino, fêmea, poodle, quatro anos, com quadro de trombocitopenia no período de 06/04/2021 a 11/08/2021.....	33
Tabela 2 - Resultados das análises bioquímicas realizadas durante o acompanhamento de um canino, fêmea, poodle, quatro anos, com quadro de trombocitopenia no período de 06/04/2021 a 01/12/2021.....	33
Tabela 3 - Hemogramas realizados no decorrer das transfusões de células derivadas da fração total de células nucleadas da MO em um canino, fêmea, poodle, quatro anos, com quadro de trombocitopenia no período de 20/08/2021 a 01/12/2021.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
BID	Bis in die
BMSCs	Células Derivadas da Fração Total de Células Nucleadas da Medula Óssea
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
FA	Fosfatase Alcalina
HVU	Hospital Veterinário Universitário
MO	Medula Óssea
TIM	Trombocitopenia Imunomediada
UFMS	Universidade Federal de Santa Maria
SBF	Soro Bovino Fetal
SID	Semel in die

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. MANUSCRITO.....</b>	<b>13</b>
<b>3. CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO A: - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL .....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos de megacariócitos e seu processo de geração é dividido em megacariopoiese e trombopoiese, sendo suas concentrações plaquetárias sanguíneas estabelecidas pelas taxas relativas de produção, consumo e destruição. Sua principal função consiste em auxiliar na reparação de lesão vascular e impedir a ocorrência de hemorragia por participação na formação de tampões hemostáticos, além de atuar no processo de inflamação e cicatrização de feridas (STOCKHAM & SCOTT, 2018). A trombocitopenia, diminuição da contagem de plaquetas circulantes, pode ser causada por destruição plaquetária, aumento do consumo, sequestro ou por supressão da produção de plaquetas (GRINDEM & COWELL, 2009).

O fenobarbital é uma droga anticonvulsivante frequentemente usada em cães (BERSAN et al., 2014; PINTO et al., 2021) e pode ser usada como exemplo de medicamento que acarreta a diminuição da produção medular de plaquetas, pois é capaz de ocasionar necrose medular, mielofibrose ou dismielopoiese (MATHIS et al., 2014; WEISS, 2005; WEISS, 2012). Quando há suspeita de o medicamento estar causando a diminuição das plaquetas circulantes a terapia com o fármaco deve ser interrompida e nova contagem plaquetária deve ser realizada entre 2 a 6 dias após sua interrupção. Caso a contagem volte ao normal, o diagnóstico de trombocitopenia medicamentosa é confirmado (SCOTT-MONCRIEFF, 2015).

A trombocitopenia imunomediada (TIM) é uma síndrome clínica que resulta da destruição acelerada das plaquetas mediada por anticorpos, sendo a causa mais comum de trombocitopenia grave em cães. Na TIM os anticorpos são dirigidos contra antígenos plaquetários, presumivelmente devido a defeito subjacente na regulação imune (SCOTT-MONCRIEFF, 2015). Esses anticorpos são tipicamente da classe IgG e são mais frequentemente direcionados contra antígenos de superfície plaquetária (SCOOT et al., 2002; HUANG et al., 2012). A patogênese da desregulação imunológica que resulta em trombocitopenia imunomediada não é completamente compreendida e é, provavelmente bastante complexa (LEVINE & BROOKS, 2019).

A TIM pode ser classificada como idiopática ou primária, quando nenhuma causa subjacente é identificada, ou como secundária quando decorre de uma afecção já estabelecida (HUANG et al, 2012), a qual pode ser de origem neoplásica ou inflamatória/infecciosa (SCOTT-MONCRIEFF, 2015). Na avaliação dos casos suspeitos de TIM deve-se incluir testes diagnósticos para identificar qualquer doença desencadeante e, desta forma, melhorar as

previsões de progressão da doença e a resposta ao tratamento, sendo até hoje um diagnóstico de exclusão tanto na medicina quanto na medicina veterinária (LEVINE & BROOKS, 2019).

Para a TIM, a imunossupressão é a base do tratamento e o uso de anti-inflamatórios esteroidais é o tratamento inicial padrão (NAKAMURA et al., 2012). Outras drogas como azatioprina, ciclosporina, imunoglobulina intravenosa humana (hIVIg) e vincristina têm sido administradas em combinação com corticosteroides como terapia adjuvante (NAKAMURA et al., 2012; SCUDERI, 2016). No entanto, a administração contínua e prolongada de corticoides pode desencadear o aparecimento de vários efeitos adversos, como hiperadrenocorticismismo iatrogênico, ulceração gastrointestinal, hipercoagulabilidade, supressão iatrogênica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e miotomia (NAKAMURA et al., 2012).

Neste contexto, a terapia com células-tronco mesenquimais vem sendo estudada, principalmente pela sua capacidade de sofrer diferenciação linhagem específica, de modular o sistema imunológico e de secretar importantes fatores bioativos (MIZUKAMI & SWIECH, 2018; NORONHA, 2019). A terapia celular é endereçada ao tratamento de doenças imunológicas, inflamatórias e para as que necessitam de reparo/restauração tecidual (GALIPEAU et al., 2016). Ainda, essas células possuem a capacidade de aumentar a taxa de multiplicação celular e diminuir da apoptose celular (SPESS et al., 2016; AMORIM & DA CRUZ JÚNIOR, 2019).

As células-tronco mesenquimais são células somáticas, multipotentes, presentes em regiões perivasculares de tecidos adultos e podem ser encontradas na medula óssea, tecido adiposo, periósteo, tecido muscular e ainda em órgãos parenquimatosos (SINGER & CAPLAN, 2011; CARNEIRO, 2018). Possuem a capacidade de migrar para locais inflamatórios devido à alta expressão de receptores de quimiocinas, metaloproteinases de matriz (MMPs) e moléculas de adesão e, quando no ambiente inflamatório, adquirem funções imunomoduladoras e imunossupressoras aprimoradas (GALIPEAU et al., 2016; DE CÁSSIA NORONHA, 2019; SÁNCHEZ, 2021)

Na medicina veterinária a literatura sobre o uso de células-tronco mesenquimais vem crescendo com relatos de seu uso terapêutico em reparos de fraturas e tendões, na regeneração de cartilagem e no suporte de enxerto após quimioterapia (HUNG et al., 2002), bem como em casos de ceratoconjuntivite seca canina (CARNEIRO, 2018) e naqueles cães com sequelas neurológicas decorrentes da infecção pelo vírus da cinomose (SANTOS et al., 2019; BALDOTTO, 2019).

Com isso, o presente trabalho objetiva descrever o uso de células derivadas da fração total de células nucleadas da medula óssea (BMSCs) extraídas da medula óssea de um cão

hígido como terapêutica adjuvante no tratamento de um paciente canino com trombocitopenia persistente e responsiva a corticoide.

## 2. MANUSCRITO

Os resultados que fazem parte desta monografia estão apresentados sob a forma de nota a ser submetida para o periódico Ciência Rural

### **Transfusão de células derivadas da fração total de células nucleadas da medula óssea em um canino com trombocitopenia persistente**

Jamile Amaral Hasan<sup>1</sup>, Bruna Antunes<sup>1</sup>, Leonardo Gaspareto dos Santos<sup>2</sup>, Camila Benaduce Emanuelli Mello<sup>2</sup>, Julia da Silva Rauber<sup>2</sup>, Alexandre Krause<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, 97105-900, Santa Maria

<sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Clínica de Pequenos Animais, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

1 **Transfusão de células derivadas da fração total de células nucleadas da medula óssea em**  
2 **um canino com trombocitopenia persistente**

3 **Transfusion of cells derived from the total nucleated cell fraction of bone marrow in a**  
4 **canine with persistent thrombocytopenia**

5 Jamile Amaral Hasan<sup>1</sup>, Bruna Antunes<sup>1</sup>, Leonardo Gaspareto dos Santos<sup>2</sup>, Camila Benaduce  
6 Emanuelli Mello<sup>2</sup>, Julia da Silva Rauber<sup>2</sup>, Alexandre Krause<sup>3</sup>

7 **-NOTA-**

8 **RESUMO**

9 Trombocitopenias ocorrem por diminuição da produção, aumento do consumo ou destruição e  
10 podem ser detectadas laboratorial e clinicamente pela observação de hemorragias de  
11 severidade variada. A corticoterapia é considerada primeira linha na terapia das  
12 trombocitopenias imunomediadas. Seu uso continuado, entretanto, está associado a vários  
13 efeitos colaterais. A terapia celular com células-tronco mesenquimais é descrita como  
14 alternativa na terapia imunomoduladora. Dessa forma, este trabalho objetiva relatar o uso de  
15 células derivadas da fração total de células nucleadas da medula óssea (BMSCs) em uma  
16 cadela com trombocitopenia responsiva a corticoide. A paciente recebia fenobarbital (2,5  
17 mg/kg) quando foi detectada trombocitopenia (15.000/ $\mu$ L) sete meses após o início do  
18 tratamento. Foi observada resposta à corticoterapia, mas, após sete meses foram observados  
19 sinais de hiperadrenocorticismos. Com o objetivo de reduzir a corticoterapia, foram  
20 transfundidas BMSCs por via intravenosa em três doses ( $2,5 \times 10^6$  células) com intervalo de  
21 27 e 87 dias da primeira transfusão. Observou-se aumento na contagem plaquetária em  
22 hemogramas subsequentes a cada uma das três aplicações de células, embora esse aumento  
23 fosse transitório. É possível que resposta mais duradoura possa ser obtida com número maior

---

<sup>1</sup> Residência Profissional em Área da Saúde – Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Professor Adjunto do Departamento de Clínica de Pequenos Animais, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

1 de aplicações e/ou de quantidade maior de células. A continuidade na terapia com fenobarbital  
2 pode ter influenciado na resposta à terapia, uma vez que essa droga é associada a discrasias  
3 sanguíneas. Dessa forma, conclui-se que mais estudos devem ser realizados para a avaliação  
4 do efeito da terapia celular na trombocitopenia imunomediada, preferencialmente em  
5 pacientes que não recebam drogas que afetem a hematopoiese. A resposta vista após as  
6 aplicações permite afirmar que a terapia celular é uma modalidade terapêutica promissora na  
7 trombocitopenia imunomediada.

8 **Palavras-chave:** mielotoxicidade; mielograma; trombograma, trombocitopenia  
9 imunomediada.

10

#### 11 **ABSTRACT**

12 Thrombocytopenias occur by reduced production, and increased consumption or destruction.  
13 This condition can be detected in the laboratory or by the observation of different degrees of  
14 bleeding. Immunosuppressive corticotherapy is considered the first line treatment for immune  
15 thrombocytopenia (ITP). However, continuous use of corticoids is associated to many side  
16 effects. Cell therapy, with mesenchymal stem cells is described as an alternative in  
17 immunomodulation. Therefore, we aim to report the use of cells derived from the total  
18 fraction of bone marrow nucleated cells (BMSCs) in a female with thrombocytopenia  
19 responsive to corticotherapy. The patient had been treated with phenobarbital for seven  
20 months, when thrombocytopenia was detected. Prednisolone 2 mg/kg was effective to restore  
21 platelet counts to the reference values, but the patient started to have signs of  
22 hyperadrenocorticism. In order to reduce corticotherapy,  $2,5 \times 10^6$  BMSCs s were  
23 intravenously injected three times with an interval of three weeks. The platelet counts  
24 increased after each cell infusion, but the increase was transitory. It is possible that a long-  
25 term response could be achieved with a higher number of injections and/or a higher amount of

1 cells/injection. The maintenance of phenobarbital in therapy could be responsible to the non-  
2 optimal response to therapy since this drug is reported in association to blood dyscrasias.  
3 Therefore, we conclude that more studies should be addressed to investigate the effects of cell  
4 therapy in ITP, preferentially in patients not treated with drugs with effects on haematopoiesis.  
5 The observed results allow us to state that cell therapy is a promising therapeutical alternative  
6 in the treatment of ITP

7 **Key-works:** myelotoxicity; myelogram; thrombogram; immune thrombocytopenia.

8  
9 As células-tronco mesenquimais são células multipotentes, não hematopoiéticas, com  
10 capacidade de se renovar e se diferenciar em várias linhagens de tecido como osso,  
11 cartilagem, tecido adiposo, tendão, músculo e estroma medular (BITTENCOURT et al., 2006;  
12 HUNG et al., 2002; CAMPAGNOLI et al., 2001). Estão presentes na medula óssea (MO), nos  
13 tecidos adiposo e muscular e em órgãos parenquimatosos (MEIRELLES et al., 2006;  
14 MONTEIRO et al., 2010). Segundo o *Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the*  
15 *International Society for Cellular Therapy* as células-tronco mesenquimais devem apresentar  
16 na sua superfície marcadores moleculares como CD105, CD73 e CD90 e serem negativas  
17 para marcadores como CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e HLA-DR  
18 (MEIRELLES et al., 2009; DOMINICI et al., 2006).

19 O uso terapêutico das células-tronco mesenquimais se dá principalmente pela sua  
20 capacidade de secretar fatores bioativos com propriedades angiogênicas e antiapoptóticas que  
21 auxiliam a restabelecer o suprimento sanguíneo de locais já lesionados, limitar o campo de  
22 dano tecidual (MEIRELLES et al., 2009; KINNAIRD et al., 2004), inibir a apoptose e a  
23 fibrose local e estimular a mitose de progenitores tecido-específicos e intrínsecos ao tecido  
24 (CAPLAN, 2009; CAPLAN & DENNIS, 2006). Ainda quando na circulação exercem função  
25 imunomoduladora (CAPLAN, 2009).

1           Acredita-se que as células-tronco mesenquimais possam fornecer resposta positiva ao  
2 tratamento de trombocitopenia quando decorrente de alterações imunológicas que levam a  
3 destruição acelerada das plaquetas, bem como processos mielotóxicos que causam a  
4 diminuição da produção plaquetária. Visto isso este trabalho tem como objetivo relatar o uso  
5 BMSCs em um canino com trombocitopenia responsiva ao uso de corticoide.

6           Uma fêmea, canina, da raça poodle, não castrada, com quatro anos de idade foi  
7 atendida no Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal da Santa Maria  
8 (HVU-UFSM) apresentando quadro de convulsão generalizada. Após o exame neurológico,  
9 foi estabelecido o diagnóstico de epilepsia idiopática. A instituição do tratamento ocorreu após  
10 a realização de exames laboratoriais como hemograma e exames bioquímicos para avaliação  
11 renal e hepática. Todos os exames apresentaram resultados dentro dos valores de referência  
12 para a espécie. O tratamento instituído consistiu de fenobarbital na dose 2,5mg/kg, BID, de  
13 uso contínuo.

14           Após sete meses de tratamento (06/04/2021), a paciente retornou apresentando queixa  
15 de apatia, dificuldade de caminhar e mímica de vômito. No exame físico não foram  
16 observadas alterações. Foram realizados hemograma e dosagem bioquímica de alanina  
17 aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), albumina, proteínas totais e ureia. Foi  
18 observada trombocitopenia intensa e discreta anemia normocítica normocrômica (Tabela 1). O  
19 leucograma não apresentou alterações. Na avaliação bioquímica sérica (Tabela 2), a atividade  
20 sérica das enzimas ALT e FA encontravam-se acima dos valores de referência. Devido à  
21 anemia e trombocitopenia, foi solicitada a pesquisa de hemoparasita em esfregaço de sangue de  
22 ponta de orelha e exames de imagem. O exame ultrassonográfico evidenciou baço com  
23 dimensões severamente aumentadas (esplenomegalia), parênquima heterogêneo e  
24 normoecogênico, com bordos arredondados e contorno preservado.

25           Sem evidências de hemoparasitose na pesquisa de hemoparasitas, bem como de severa

1 anemia e alterações plasmáticas como icterícia e/ou hemólise, que normalmente são achados  
2 presente em casos de piroplasmose, descartou-se esta possibilidade. Outras afecções que  
3 pudessem levar à trombocitopenia foram investigadas, dentre elas o uso contínuo de  
4 fenobarbital, entretanto, a suspensão de sua administração não foi possível devido ao grave  
5 quadro epilético.

6 Optou-se por instituir terapia com anti-inflamatório esteroideal para diagnóstico  
7 terapêutico presuntivo de trombocitopenia imunomediada (TIM), sendo tanto de origem  
8 primária como secundária ao uso de medicamento. A dose inicial administrada foi de 2mg/kg  
9 de prednisolona, SID, por via oral até nova avaliação. Após três dias de tratamento  
10 (09/04/2021), o hemograma foi repetido e, neste, observou-se melhora na contagem de  
11 plaquetas, assim como um aumento no hematócrito, hemoglobina e eritrócitos (Tabela 1). Os  
12 resultados dos outros hemogramas realizados no decorrer do tratamento com corticoide  
13 também estão expressos na Tabela 1. Já os resultados dos exames bioquímicos solicitados no  
14 decorrer do tratamento da paciente estão demonstrados na Tabela 2.

15 No sexto dia (12/04/2021) de tratamento foi reduzida a dose do corticoide para  
16 1,5mg/kg, SID, por via oral, a fim de observar a resposta plaquetária frente a dose mais baixa  
17 para manutenção diária. Após quatro dias (16/04/2021) da nova dose, novo hemograma foi  
18 realizado e neste observou-se severa queda plaquetária (Tabela 1), sendo necessário o retorno  
19 da corticoterapia para 2mg/kg. Durante oito meses foi realizado o acompanhamento do  
20 paciente por meio da realização de hemograma (Tabela 1) e avaliação bioquímica sérica renal  
21 e hepática (Tabela 2) devido ao uso contínuo de corticoide e fenobarbital.

22 Em muitos momentos tentou-se a redução da dose do corticoide, no entanto, houve  
23 queda das plaquetas circulantes novamente. Em alguns exames se observou uma instabilidade  
24 no número de leucócitos totais e de seu diferencial leucocitário, sendo marcado  
25 principalmente pela linfopenia, monocitose e discreto desvio a esquerda (Tabela 1). Ainda,

1 por vezes, visualizaram-se monócitos ativados, linfócitos reativos, macroplaquetas e  
2 alterações morfológicas nas hemácias como presença de corpúsculos de *Howell-Jolly*,  
3 anisocitose, policromasia, *rouleaux*, hemácias macrocíticas e presença de metarrubricitos.

4 Com o intuito de investigar alterações no baço que pudessem explicar a queda da  
5 massa plaquetária circulante, optou-se por realizar a citologia por agulha fina sem aspiração.  
6 Para tal, a mesma foi realizada guiada por ultrassonografia. As lâminas foram coradas com  
7 corante tipo *Romanowsky*. A análise citopatológica caracterizou-se por achados morfológicos  
8 citológicos normais. A possibilidade de esplenectomia foi sugerida ao tutor, uma vez que essa  
9 representaria uma tentativa de diminuir a destruição plaquetária pelo sistema mononuclear  
10 fagocítico esplênico. Foi realizada a esplenectomia e o órgão encaminhando para o  
11 Laboratório de Patologia Veterinária (HVU-UFSM) para exame histopatológico. O exame  
12 histopatológico evidenciou metaplasia mieloide multifocal leve e histiocitose multifocal  
13 moderada a acentuada, bem como depleção linfoide acentuada. Foi observada também  
14 adjacente às trabéculas, discreta quantidade de macrófagos com material acastanhado  
15 intracitoplasmático (interpretado como hemossiderina). Foram ainda visualizadas áreas em  
16 que a cápsula esplênica estava descontínua formando uma nodulação de tecido esplênico  
17 extracapsular, com hemorragia subcapsular focalmente extensa moderada.

18 Afecções imunomediadas, como a anemia imunomediada, além de produzirem  
19 anticorpos contra as células maduras presentes na circulação, podem direcionar seu efeito para  
20 precursores na MO (LUCIDI et al., 2017). Ainda, o uso de fenobarbital pode levar a reações  
21 idiossincráticas como trombocitopenia, sendo esta dependente da linha hematopoiética  
22 afetada pelo medicamento (SCOTT et al., 2021; JUNG et al., 2015; BERSAN et al., 2014).  
23 Com base nisso, foi realizada a punção aspirativa da MO para a realização de mielograma, de  
24 acordo com a técnica descrita por Harvey, 2012. Foi obtido material da parte proximal do  
25 úmero e confeccionadas lâminas, posteriormente coradas com corante tipo *Romanowsky*.

1           A medula óssea apresentava-se hipocelular para a idade, com proporção de gordura  
2 superior a 50%, relação mieloide:eritroide dentro dos valores de referência, discreta  
3 hiperplasia megacariocítica, com predomínio de megacariócitos maduros, alguns  
4 discretamente displásicos (lobulação nuclear atípica). As séries mieloide e eritroide  
5 apresentavam-se completas e escalonadas, sem alterações dignas de nota. Foram observados  
6 números aumentados de monócitos e macrófagos, e estes últimos apresentavam citoplasma  
7 abundante e vacúolos contendo hemácias, leucócitos e plaquetas. Uma quantidade maior de  
8 células reticulares, endoteliais e de estroma, bem como matriz extracelular foram observadas,  
9 sugerindo aumento de tecido fibrótico na medula óssea. Os achados de mielograma, em  
10 conjunto sugerem hemofagocitose e fibrose medular, bem como megacariopoiese reativa.

11           Com o uso prolongado de corticoide em dose alta a paciente começou a apresentar  
12 efeitos colaterais ao tratamento, dentre eles: ganho de peso e alterações bioquímicas na  
13 avaliação hepática (Tabela 2), predispondo ao desenvolvimento de outras patologias  
14 secundárias ao hormônio cortisol. Devido a isso, foi instituído o uso de outras drogas  
15 imunomoduladoras na tentativa de diminuir a dose da corticoterapia. Os fármacos de escolha  
16 foram azatioprina na dose de 2mg/kg, SID e ciclosporina na dose de 5mg/kg, SID. No  
17 entanto, ambos não demonstraram efetividade.

18           Após as várias tentativas terapêuticas realizadas, estudou-se a possibilidade de  
19 transfusão de BMSCs, com o objetivo de diminuir a resposta inflamatória pela sua capacidade  
20 imunomoduladora, bem como estimular produção e liberação plaquetária. Para isso, foram  
21 utilizadas BMSCs obtidas a partir da punção aspirativa da medula óssea de cão adulto, hígido,  
22 cultivadas por dois meses e criopreservadas a -80°C.

23           Para sua aplicação, as células passaram por processo de descongelamento rápido em  
24 banho-maria a 37° C, centrifugadas por 10 minutos a 300 x g, duas vezes, em meio de cultivo  
25 (DMEM + 10% Soro Bovino Fetal) e resuspensas em solução fisiológica estéril para

1 aplicação intravenosa lenta (5 a 10 minutos) na veia cefálica na quantidade de  $2,5 \times 10^6$  células.

2 Foram realizadas três transfusões. Antes de cada transfusão foram colhidos 4ml de  
3 sangue em tubo com EDTA (10%) para realização de hemograma. A primeira colheita de  
4 sangue para avaliação foi definida como 1ªT (20/08/2021). No quarto dia pós-transfusão  
5 (24/08/2021) a paciente retornou ao HVU-UFSM para uma nova colheita de sangue e  
6 avaliação das plaquetas e estas apresentaram uma resposta expressiva ocorrendo um marcado  
7 aumento no número de plaquetas circulantes (Tabela 3). No sétimo dia pós-transfusão  
8 (27/08/2021) essa resposta ainda era evidente e significativa (Tabela 3) e, então, se tentou  
9 diminuir a dose de uso do corticoide de 4mg/kg para 2mg/kg uma vez ao dia, por via oral.

10 Após 12 dias de redução da dose da corticoterapia, no 19º dia pós transfusão  
11 (08/09/2021), foi realizado um novo hemograma de acompanhamento e neste as plaquetas  
12 revelaram uma moderada queda, sendo esta diminuição presente, também, após 14 dias de  
13 redução do medicamento (10/09/2021). Com a queda gradual das plaquetas preferiu-se efetuar  
14 uma segunda e terceira transfusão de BMSCs, estas ocorreram 27 e 87 dias após a primeira  
15 transfusão, ditas como 2ª T e 3ªT, respectivamente. Todos os exames estão expressos na  
16 Tabela 3.

17 Foram administradas as mesmas doses e utilizadas a mesma via nas três transfusões. No  
18 entanto, notou-se que ocorreu um aumento moderado na contagem de plaquetas (Tabela 3), na  
19 segunda transfusão, quando comparadas com a primeira aplicação de células, sendo este  
20 aumento e durabilidade ainda menor na terceira transfusão. Porém, as doses da terapia com  
21 cortisol mantiveram-se menores do que antes das transfusões, ponto positivo a ser  
22 considerado.

23 Segundo Scott-Moncrieff (2015) fêmeas são duas vezes mais acometidas por TIM do  
24 que machos e, embora possa ocorrer em qualquer raça, poodles estão entre a maioria dos  
25 animais acometidos. Esta evidencia entra em acordo com o caso apresentado. Ainda,

1 descrevem que a trombocitopenia encontrada em cães com TIM primária usualmente é grave  
2 (<50.0000 plaquetas/ul) e seu diagnóstico só pode ser feito após a exclusão de outras causas  
3 de trombocitopenia, onde tanto na medicina quanto na veterinária não há teste padrão ouro  
4 para tal (PROVAN et al., 2010; LEVINE & BROOKS, 2019). No caso apresentado  
5 observamos marcada trombocitopenia no hemograma, com a investigação de causas  
6 secundárias que pudessem estar provocando sequestro e/ou consumo de plaquetas.

7 Além disso, JUNG et al. (2015) relatam a ocorrência de trombocitopenia e neutropenia  
8 decorrente do uso fenobarbital, mesmo em doses terapêuticas baixas, mas a patogênese dessas  
9 alterações não foram totalmente explicadas embora suspeita-se que a destruição periférica de  
10 células sanguíneas maduras seja por mecanismo de toxicidade. Ainda, há a possibilidade de o  
11 fenobarbital causar outros efeitos hematológicos adversos como mielofibrose e necrose da  
12 medula óssea (WEISS et al., 2012; WEISS & SMITH, 2002; WEISS, 2005), sendo desta  
13 forma, também, um possível causador das alterações vistas nos hemogramas da paciente. O  
14 diagnóstico da trombocitopenia decorrente do uso de fenobarbital é realizado quando há a  
15 reversão espontânea do quadro após a interrupção do uso (BERSAN et al., 2014; PINTO et  
16 al., 2021), no entanto, como dito anteriormente, este não foi possível devido a necessidade de  
17 administração do medicamento.

18 Para a realização de diagnóstico presuntivo de distúrbio imunuomediado e instituição  
19 do tratamento ao paciente, iniciou-se o uso de corticoide e por meio deste obteve-se resultado  
20 satisfatório. Os glicocorticoides atuam na inibição de anticorpos antiplaquetários, aumentam a  
21 produção de plaquetas e inibem a fagocitose das plaquetas pelos macrófagos, trazendo  
22 benefícios terapêuticos ao paciente acometido (FUJISAWA et al., 1993; NAKAMURA et al,  
23 2012). Ainda, relatos em humanos indicam que altas doses de corticoide podem induzir  
24 resposta hematológica (BRAZZELL & WEISS, 2006; YOUNG et al., 1995), explicando desta  
25 forma, também, o aumento considerável do hematócrito após instituição da terapia.

1           No decorrer do tratamento com corticoide foram observadas alterações nos  
2 leucogramas como linfopenia e monocitose (Tabela 1), sendo que os esteroides podem induzir  
3 a apoptose de linfócitos e alterar seus padrões de recirculação levando a essa diminuição de  
4 linfócitos na circulação (WEISER, 2015). Os monócitos possivelmente são transferidos do  
5 compartimento marginal para o circulante ocasionado pelo medicamento o que leva seu  
6 aumento na circulação (STOCKHAM & SCOTT, 2018).

7           A metaplasia mieloide esplênica, histiocitose e hiperesplenismo (MMEHH) indica  
8 padrão histológico esplênico que demonstra a causa e os efeitos das citopenias por sequestro,  
9 podendo ser decorrentes tanto de um hiperesplenismo primário como secundário a várias  
10 doenças que cursam com hiperativação dos macrófagos esplênicos (FIGHERA & GRAÇA,  
11 2016). Com isso percebemos que há a possibilidade de o baço ter um papel importante na  
12 trombocitopenia observada, no entanto, sua ação ainda não era a causa base da alteração  
13 laboratorial, pois mesmo após a esplenectomia ainda houve a queda no valor absoluto das  
14 plaquetas circulantes.

15           O aumento do número de macrófagos na medula óssea (>1%) pode ocorrer devido à  
16 necrose medular, processos inflamatórios, neoplásicos ou doenças infecciosas. Ainda, a  
17 presença de proeminente de eritrofagocitose pode ocorrer em associação a anemias  
18 imunomediadas primárias ou secundárias (HARVEY, 2012). Os achados do mielograma são  
19 compatíveis com a suspeita de alteração imunomediada. Observou-se, também, a presença de  
20 discreta hiperplasia megacariocítica, provavelmente em resposta à trombocitopenia  
21 (STOCKHAM & SCOTT, 2018).

22           As alterações sugestivas de fibrose medular podem ser decorrentes da administração  
23 de fenobarbital de acordo com Harvey (2015), que cita como causas de necrose medular  
24 neoplasias mieloproliferativas, neoplasias linfoproliferativas, neoplasias não originárias da  
25 medula e decorrente de tratamento medicamentoso com fenobarbital, fenilbutazona e

1 colchicina. No entanto, o diagnóstico definitivo de mielofibrose só pode ser realizado por  
2 meio do exame histopatológico.

3 A FA é uma enzima de indução presente nas membranas celulares e sua produção  
4 pelos hepatócitos pode ser induzida por medicamentos como corticosteroides e  
5 anticonvulsivante, tendo como exemplo o fenobarbital (ALLISON, 2015). O paciente em  
6 questão apresentou aumento progressivo enzimático da atividade durante o seu  
7 acompanhamento explicado, então, pela isoforma da FA induzida pela administração contínua  
8 dos dois medicamentos citados acima. Ainda, observamos que a ALT, de mesma forma,  
9 apresentou aumento expressivo em sua atividade (Tabela 2). Este aumento pode ser explicado,  
10 também, pelo uso de corticoides exógenos, mas não se pode descartar a possibilidade de uma  
11 verdadeira lesão da membrana dos hepatócitos que leva ao extravasamento da enzima  
12 (ALLISON, 2015). O tratamento de patologias com o uso de glicocorticoides pode resultar  
13 em alterações progressivas no fígado que comprometem a função dos hepatócitos (RUTGERS  
14 et al., 1995; PEREIRA et al., 2011).

15 A resposta imediatamente posterior à aplicação das BMSCs sugere atuação favorável  
16 no aumento da massa plaquetária circulante mediante suas propriedades imunológicas.  
17 Quando ocorre a interação parácrina das células-tronco mesenquimais com o  $INF-\gamma$ ,  
18 produzidos pelas células imunes do organismo, as células-tronco mesenquimais liberam  
19 diversos fatores solúveis que atuarão sobre os linfócitos e as células dendríticas  
20 apresentadoras de antígenos (MONTEIRO et al., 2010; NAUTA & FIBBE, 2007).

21 As células-tronco mesenquimais interferem na diferenciação, maturação e atividade  
22 das células dendríticas apresentadoras de antígenos decorrentes da produção de interleucina-6  
23 (IL-6) e de fator de crescimento estimulador de macrófago (M-CSF) (MONTEIRO et al.,  
24 2010). Estudos relatam que possuem a capacidade de inibir a proliferação de células B  
25 (GLENNIE et al., 2005; NAUTA & FIBBE, 2007), bem como afetar sua diferenciação,

1 produção de anticorpos e seu comportamento quimiotático (CORCIONE, et al., 2006;  
2 NAUTA & FIBBE, 2007). Desta forma, levam à diminuição de anticorpos antiplaquetários, o  
3 que minimiza a destruição das plaquetas circulantes.

4 Outro mecanismo provocado pela aplicação de células-tronco mesenquimais a ser  
5 considerado é sua capacidade de funcionar como pericitos vasculares (CAPLAN, 2008;  
6 CAPLAN, 2009) onde sua atividade trófica limita o campo de dano, garante que não ocorra a  
7 cicatrização (fibrose), e que os progenitores intrínsecos do tecido substituam as células  
8 apoptóticas (CAPLAN, 2009). Desta forma, a terapia celular apresentada no caso pode ter  
9 melhorado o microambiente medular a partir da sua função angiogênica e capacidade de  
10 sofrer diferenciação específica. No entanto, deve-se considerar que a administração de  
11 fenobarbital não pode ser desfeita o que pode ter interferido na manutenção do número de  
12 plaquetas circulantes, bem como interferido no aumento da sua contagem, visto após as  
13 transfusões seguintes.

14 A partir dos resultados obtidos é possível observar o aumento da contagem plaquetária  
15 após a terapia com celular. O aumento observado foi transitório, e pode dever-se a vários  
16 fatores, como a dose de células utilizadas, a não interrupção da terapia com um fármaco  
17 potencialmente mielotóxico, ou fatores associados à condição primária da paciente. Dessa  
18 forma, sugere-se mais estudos da utilização de BMSCs em pacientes com trombocitopenia,  
19 com variação de doses, número de aplicações e, se possível, sem o uso concomitante de  
20 drogas que possam influenciar a hematopoiese. A partir dos resultados obtidos é possível  
21 também concluir que a terapia é uma alternativa promissora e segura no tratamento de  
22 condições imunomediadas, como a trombocitopenia observada no presente caso.

23

## 24 **REFERÊNCIAS**

25 AIELLO, G. et al. Aspectos terapêuticos de cães com diagnóstico presuntivo de epilepsia

- 1 idiopática. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 1-9, 2017. Disponível em  
2 <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289053641058>>. Acesso em: 12 jan. 2022.
- 3 ALLISON, R. W. Avaliação Laboratorial da Função Hepática. In: THRALL, M. A., WEISER,  
4 G., ALLISON, R. W., CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**.  
5 Rio de Janeiro: Guanaraba Koogan, 2015. Cap. 26, p. 346-363.
- 6 BERSAN, E. et al. Phenobarbitone-induced haematological abnormalities in idiopathic  
7 epileptic dogs: prevalence, risk factors, clinical presentation and outcome. **Veterinary**  
8 **Record**, v. 175, n. 10, p. 247-247, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/vr.102158>>.  
9 Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.1136/vr.102158.
- 10 BITTENCOURT, R. A. D. C. et al. Isolamento de células-tronco mesenquimais da medula  
11 óssea. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 14, p. 22-24, 2006. Disponível em:  
12 <<https://www.scielo.br/j/aob/a/yKVzsD3CPL7qjLfkbr3hBJq/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso  
13 em: 20 dez. 2021.
- 14 BRAZZELL, J. L.; WEISS, D. J. A retrospective study of aplastic pancytopenia in the dog: 9  
15 cases (1996–2003). **Veterinary clinical pathology**, v. 35, n. 4, p. 413-417, 2006. Disponível  
16 em: <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00157.x>>. Acesso em: 14 jan. 2022. doi:  
17 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00157.x.
- 18 CAMPAGNOLI, C. et al. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-  
19 trimester fetal blood, liver, and bone marrow. **Blood, The Journal of the American Society**  
20 **of Hematology**, v. 98, n. 8, p. 2396-2402, 2001. Disponível em:  
21 <<https://doi.org/10.1182/blood.V98.8.2396>>. Acesso em 18 dez. 2021. doi:  
22 10.1182/blood.V98.8.2396.
- 23 CAPLAN, A. I. All MSCs are pericytes?. **Cell stem cell**, v. 3, n. 3, p. 229-230, 2008.  
24 Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.08.008>>. Acesso em: 18 dez. 2021. doi:  
25 10.1016/j.stem.2008.08.008.

- 1 CAPLAN, A. I.; DENNIS, J. E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. **Journal of**  
2 **cellular biochemistry**, v. 98, n. 5, p. 1076-1084, 2006. Disponível em:  
3 <<https://doi.org/10.1002/jcb.20886>>. Acesso em: 20 dez. 2021. doi: 10.1002/jcb.20886.
- 4 CAPLAN, A. I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. **The Journal of**  
5 **Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 217, n.  
6 2, p. 318-324, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/path.2469>>. Acesso em: 20 dez.  
7 2021. doi: 10.1002/path.2469.
- 8 CORCIONE, A. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. **Blood**, v.  
9 107, n. 1, p. 367-372, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2657>>.  
10 Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.1182/blood-2005-07-2657.
- 11 DOMINICI, M. L. B. K. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal  
12 cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, n.  
13 4, p. 315-317, 2006. Disponível em:  
14 <[https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14653240600855905?scroll=top&needAccess](https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14653240600855905?scroll=top&needAccess=true)  
15 [=true](https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14653240600855905?scroll=top&needAccess=true)>. Acesso em: 18 dez. 2021. doi: 10.1080/14653240600855905.
- 16 FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema hematopoiético. In: SANTOS, R, L.; ALESSI, A.  
17 C. **Patologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 6, p. 311-406.
- 18 FUJISAWA, K. et al. The effect of therapy on platelet-associated autoantibody in chronic  
19 immune thrombocytopenic purpura. 1993. Disponível em:  
20 <<https://doi.org/10.1182/blood.V81.11.2872.2872>>. Acesso em: 20 dez. 2021. doi:  
21 10.1182/blood.V81.11.2872.2872.
- 22 GLENNIE, S. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of  
23 activated T cells. **Blood**, v. 105, n. 7, p. 2821-2827, 2005. Disponível em:  
24 <<https://doi.org/10.1182/blood-2004-09-3696>>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.1182/blood-  
25 2004-09-3696.

- 1 HARVEY, J. W. Bone Marrow Examination. In: \_\_\_\_\_. **Veterinary Hematology a Diagnostic**  
2 **Guide and Color Atlas**. Missouri: Elsevier, 2012. Cap. 8, p. 234 – 259.
- 3 HARVEY, J. W. Disorders of Bone Marrow. In: \_\_\_\_\_. **Veterinary Hematology a Diagnostic**  
4 **Guide and Color Atlas**. Missouri: Elsevier, 2012. Cap. 9, p. 261 – 325.
- 5 JUNG, H.; KANG, M.; PARK, H. Drug-induced blood cell dyscrasia associated with  
6 phenobarbital administration in a dog. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 4,  
7 p. 263-266, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.14405/kjvr.2015.55.4.263>>. Acesso em:  
8 19 jan. 2021. doi: 10.14405/kjvr.2015.55.4.263.
- 9 KINNAIRD, T. et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum  
10 of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine  
11 mechanisms. **Circulation research**, v. 94, n. 5, p. 678-685, 2004. Disponível em:  
12 <<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000118601.37875.AC>>. Acesso em: 19 jan. 2021. doi:  
13 10.1161/01.res.0000118601.37875.ac.
- 14 LEVINE, D. N.; BROOKS, M. B. Immune thrombocytopenia (ITP): Pathophysiology update  
15 and diagnostic dilemmas. **Veterinary clinical pathology**, v. 48, p. 17-28, 2019. Disponível  
16 em: <<https://doi.org/10.1111/vcp.12774>> Acesso em 20 dez. 2021. doi: 10.1111/vcp.12774.
- 17 LUCIDI, C. A. et al. Histologic and cytologic bone marrow findings in dogs with suspected  
18 precursor-targeted immune-mediated anemia and associated phagocytosis of erythroid  
19 precursors. **Veterinary clinical pathology**, v. 46, n. 3, p. 401-415, 2017. Disponível em:  
20 <<https://doi.org/10.1111/vcp.12502>>. Acesso em: 2 jan. 2021. doi: 10.1111/vcp.12502.
- 21 MEIRELLES, L. S.; CAPLAN, A. I.; NARDI, N. B.. In search of the in vivo identity of  
22 mesenchymal stem cells. **Stem cells**, v. 26, n. 9, p. 2287-2299, 2008. Disponível em:  
23 <<https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-1122>>. Acesso em 12 jan. 2021: doi:  
24 10.1634/stemcells.2007-1122.
- 25 MEIRELLES, L. S.; CHAGASTELLES, P. C.; NARDI, N. B. Mesenchymal stem cells reside

- 1 in virtually all post-natal organs and tissues. **Journal of cell science**, v. 119, n. 11, p. 2204-  
2 2213, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1242/jcs.02932>>. Acesso em: 12 jan. 2021.  
3 doi: 10.1242/jcs.02932.
- 4 MONTEIRO, B. S.; ARGOLO NETO, N. M.; DEL CARLO, R. J. Células-tronco  
5 mesenquimais. **Ciência Rural**, v. 40, p. 238-245, 2010. Disponível em:  
6 <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782010000100040>>. Acesso em: 20 dez. 2021. doi:  
7 10.1590/S0103-84782010000100040.
- 8 NAKAMURA, R. K.; TOMPKINS, E.; BIANCO, D. Therapeutic options for immune-  
9 mediated thrombocytopenia. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 22, n.  
10 1, p. 59-72, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2011.00705.x>>.  
11 Acesso em: 18 dez. 2021. doi: 10.1111/j.1476-4431.2011.00705.x.
- 12 NAUTA, A. J.; FIBBE, W. E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal  
13 cells. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 110, n. 10, p. 3499-  
14 3506, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-069716>>. Acesso em: 02  
15 jan. 2022. doi: 10.1182/blood-2007-02-069716.
- 16 PEREIRA, B. J. et al. Avaliação dos efeitos da terapia com prednisona em cães utilizando  
17 análises ultrassonográfica, citopatológica e histopatológica. **Revista Ceres**, v. 58, p. 561-  
18 566, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-737X2011000500005>>. Acesso  
19 em: 20 dez. 2021. doi: 10.1590/S0034-737X2011000500005.
- 20 PINTO, G. O. P. A. et al. Pancitopenia induzida em um cão pelo uso concomitante de  
21 fármacos mielotóxicos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, n. 1, p. 638, 2021. . Disponível  
22 em: <[http://www.ufrgs.br/actavet/49-suple-1/CR\\_638.pdf](http://www.ufrgs.br/actavet/49-suple-1/CR_638.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi:  
23 10.22456/1679-9216.111295.
- 24 PROVAN, D. et al. International consensus report on the investigation and management of  
25 primary immune thrombocytopenia. **Blood, The Journal of the American Society of**

- 1 **Hematology**, v. 115, n. 2, p. 168-186, 2010. Disponível em: <[https://doi.org/10.1182/blood-](https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-225565)  
2 [2009-06-225565](https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-225565)>. Acesso em: 20 dez. 2021 doi: 10.1182/blood-2009-06-225565.
- 3 RUTGERS, H. C. et al. Subcellular pathologic features of glucocorticoid-induced  
4 hepatopathy in dogs. **American journal of veterinary research**, v. 56, n. 7, p. 898-907,  
5 1995. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/7574158>>. Acesso em: 20 dez.  
6 2021.
- 7 STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Leucócitos. In\_\_\_\_\_. **Fundamentos de Patologia**  
8 **Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. Cap. 2, p. 45-.89.
- 9 STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Medula óssea a Linfonodo. In\_\_\_\_\_. **Fundamentos de**  
10 **Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. Cap. 6, p.  
11 263-302.
- 12 STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Plaquetas. In\_\_\_\_\_. **Fundamentos de Patologia Clínica**  
13 **Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. Cap. 4, p. 186-212.
- 14 SCOTT, M. A. et al. Development of a sensitive immunoradiometric assay for detection of  
15 platelet surface-associated immunoglobulins in thrombocytopenic dogs. **American journal of**  
16 **veterinary research**, v. 63, n. 1, p. 124-129, 2002. Disponível em:  
17 <<https://doi.org/10.2460/AJVR.2002.63.124>>. Acesso em: 20 dez. 2021. doi:  
18 10.2460/AJVR.2002.63.124.
- 19 SCOTT, T. N. et al. Bone marrow, blood, and clinical findings in dogs treated with  
20 phenobarbital. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 50, n. 1, p. 122-131, 2021. Disponível em:  
21 <<https://doi.org/10.1111/vcp.13013>>. Acesso em: 18 jan. 2022. doi: 10.1111/vcp.13013.
- 22 SINGER, N. G.; CAPLAN, A. I. Mesenchymal stem cells: mechanisms of  
23 inflammation. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, p. 457-478,  
24 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130230>>. Acesso em:  
25 12 jan. 2022. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130230.

- 1 SPEES, J. L.; LEE, R. H; GREGORY, C. A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell  
2 function. **Stem cell research & therapy**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2016. . Disponível em:  
3 <<https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-016-0363-7>>. Acesso em: 02 jan. 2022. doi:  
4 10.1186/s13287-016-0363-7.
- 5 TIPOLD, A. et al. Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital  
6 for the control of idiopathic epilepsy in dogs. **Journal of veterinary pharmacology and**  
7 **therapeutics**, v. 38, n. 2, p. 160-168, 2015. Disponível em:  
8 <<https://doi.org/10.1111/jvp.12151>>. Acesso em 02 jan. 2022. doi: 10.1111/jvp.12151.
- 9 WEISS, D. J. et al. Drug-associated blood cell dyscrasias. **Compend Contin Educ Vet**, v. 34,  
10 n. 6, p. E2, 2012. Disponível em: <[http://vetfolio-](http://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612_Wiess_CE.pdf)  
11 [vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612\\_Wiess\\_CE.](http://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612_Wiess_CE.pdf)  
12 [pdf](http://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612_Wiess_CE.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2022.
- 13 WEISS, D. J.; SMITH, S. A. A retrospective study of 19 cases of canine  
14 myelofibrosis. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 16, n. 2, p. 174-178, 2002. .  
15 Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb02351.x>>. Acesso em: 02 jan.  
16 2022. doi: 10.1111/j.1939-1676.2002.tb02351.x.
- 17 WEISS, D. J. Bone marrow necrosis in dogs: 34 cases (1996–2004). **Journal of the**  
18 **American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 2, p. 263-267, 2005. . Disponível em:  
19 <<https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.263>>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi:  
20 10.2460/javma.2005.227.263.
- 21 WEISER, G. Interpretação da Resposta Leucocitária na Doença. In: THRALL, M. A.;  
22 WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica**  
23 **Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanaraba Koogan, 2015. Cap. 12, p. 108-119.
- 24 YOUNG, N. S. et al. The treatment of severe acquired aplastic anemia. **Blood**, v. 85, n. 12, p.  
25 3367-3377, 1995. Disponível em:

1 <<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.324.9901&rep=rep1&type=pdf>>.

2 Acesso em: 8 jan. 2022.

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

- 1 Tabela 1: Hemogramas realizados no período pré-transfusão de células derivadas da fração total de células nucleadas da MO em um canino,  
 2 fêmea, poodle, quatro anos, com quadro de trombocitopenia no período de 06/04/2021 a 11/08/2021.

HEMOGRAMAS REALIZADOS ANTES DAS TRANFUSÕES										
	06/04	09/04	16/04	20/05	08/06	17/06	12/07	30/07	11/08	Referências*
Eritrócitos	4,71	6,57	6,77	6,76	5,99	5,17	5,54	5,54	5,19	5,7-8,5/μL
Hemoglobina	11,9	17,0	17,6	18,7	17	13,2	14,6	14,9	15,3	14,1-20,1g/d
Hematócrito	32,6	50,5	50,7	52,8	47,4	38,9	43,9	45	41	41-58%
VCM	69,3	77	74,9	78	79,2	75,3	79,3	81,3	78	64-76fL
CHCM	36,5	33,8	34,7	35,4	35,8	33,9	33,2	33,1	36	33-36%
RDW	10,2	11,9	10,7	12,7	10	10,8	10,8	12	12,2	10,6-14,3%
PPT	6,8	8,2	7,8	7,2	7,2	6,8	8,0	9,0	8,9	5,9-7,8g/d
Plaquetas	15.000	58.000	6.000	225.000	90.000	66.000	51.000	90.000	135.000	186.000-545.000/μL
Leucócitos	4.800	7.900	8.600	13.700	10.700	10.500	11.500	9.000	12.800	5.700-14.200/μL
Bastonetes	0	0	86	0	0	0	0	0	128	0-100/μL
Segmentados	3.168	5.214	6.622	11.371	6.741	8.505	10.005	6.750	9.344	2.700-9.400/μL
Linfócitos	1.488	1.580	1.634	411	2.140	630	575	900	1.152	900-4.700/μL
Monócitos	0	237	172	1.644	1.177	1.155	690	1.080	2.048	100-1.300/μL
Eosinófilos	144	79	86	274	642	210	230	270	0	100-2.100/μL

3 \*Valores de referência segundo Cornell University (2008).

4 VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Red Cell Distribution Width; PPT: Proteínas  
 5 Plasmáticas Totais.

6

7 Tabela 2: Resultados das análises bioquímicas solicitadas durante o acompanhamento de um canino, fêmea, poodle, quatro anos, com quadro de  
 8 trombocitopenia no período de 06/04/2021 a 01/12/2021.

BIOQUÍMICA SÉRICA										
	06/04	19/04	26/05	01/06	12/07	11/08	28/10	16/11	01/12	Referências
Albumina	2,5	2,7	2,6	2,6	3,3	2,6	2,7	2,8	3,0	3,2-4,1g/dL
ALT	240	487	604	368	497	1.004	964	1.433	1.082	17-95UI/L
Creatinina	0,9	0,8	0,6	0,6	0,8	0,7	0,7	**	0,4	0,6-1,4mg/dL
FA	892	1.595	2.748	3.068	4.073	5.520	4.308	6.875	5.278	7-115UI/L
Proteínas totais	5,9	6,9	7,7	**	6,6	6,8	4,9	5,1	6,0	5,5-7,2g/dL
Ureia	30	43	39	**	44	61	23	**	18	9-26 mg/dL

9 \* Valores de referência segundo Cornell University (2008).

10 \*\*Dosagem sérica não realizada

11 ALT: Alanina Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina.

12

- 1 Tabela 3: Eritrogramas realizados no decorrer das transfusões de células derivadas da fração total de células nucleadas da MO em um canino, fêmea,  
 2 poodle, quatro anos, com quadro de trombocitopenia no período de 20/08/2021 a 01/12/2021.

## ERITROGRAMAS REALIZADOS DURANTE AS TRANSFUSÕES

	20/08	24/08	27/08	08/09	10/09	16/09	22/09	13/10	28/10	16/11	23/11	01/12	Referências*
RBC	5,53	6,08	5,43	6,4	6,2	6,72	6,25	6,06	6,15	5,96	6,13	6,49	5,7-8,5/ $\mu$ L
HGM	15,4	15	15,2	16,9	16,4	17,0	17,2	16,3	16,6	15,6	16,1	16,8	14,1-20,1g/d
HCT	44,4	45	42,8	50	48,2	51,8	47,7	46,2	47,1	48	46,7	50	41-58%
VCM	80	74	78,9	78,2	77,9	77,1	76,4	76,3	76,6	80,5	76,2	77	64-76FL
CHCM	34,6	33,3	35,5	33,8	34,0	32,8	36	35,2	35,2	32,5	34,5	33,6	33-36%
RDW	12,1	12	11,3	11	11	11,1	11,1	12	11,6	13,2	12	11,5	10,6-14,3%
PPT	8,4	8,8	8,8	8,0	8,0	9,0	8,6	8,4	7,8	7,4	7,6	7,4	5,9-7,8g/d
PLAQ	86.000	234.000	259.000	150.000	174.000	63.000	147.000	180.000	70.000	98.000	213.700	23.000	186.000-545.000/ $\mu$ L
MET	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	

3 OBS: 20/08 1ª T; 16/09 2ª T; 16/11 3ª T.

4 \*Valores de referência segundo Cornell University (2008).

5 RBC: Red blood cells; HGM: Hemoglobina; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina

6 Corpuscular Média; RDW: Red Cell Distribution Width; PPT: Proteínas Plasmáticas Totais; PLAQ: Plaquetas; MET: Metarrubrócitos.

7

### **3. CONCLUSÃO**

Conclui-se que a utilização das células derivadas da fração total de células nucleadas da MO teve influência na contagem plaquetária, no entanto pode ter ocorrido interferência da terapia estabelecida para o paciente. Mais estudos são necessários, principalmente em cães com diagnóstico estabelecido de trombocitopenia imunomediada, ou de alterações medulares primárias, com o objetivo de avaliar os efeitos da terapia celular na hematopoiese.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, V. M.; DA CRUZ JÚNIOR, C. A. Terapia celular com células-tronco mesenquimais em animais com hipoplasia de medula óssea. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa**, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.5102/pic.n0.2019.7652>>. Acesso em: 18 jan. 2022. doi: 10.5102/pic.n0.2019.7652

BALDOTTO, S. B. **Efeitos da terapia com células estromais mesenquimais multipotentes em cães com encefalomielite pelo vírus da cinomose**. 2019, 187 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2019.

BERSAN, E. et al. Phenobarbitone-induced haematological abnormalities in idiopathic epileptic dogs: prevalence, risk factors, clinical presentation and outcome. **Veterinary Record**, v. 175, n. 10, p. 247-247, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/vr.102158>>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.1136/vr.102158.

CARNEIRO, RAQUEL MELLO FERNANDEZ. **Terapia com Células Tronco em Cães com Ceratoconjuntivite Seca**. 2018, 70 p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde e Meio Ambiente) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, 2018.

GALIPEAU, J. et al. International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials. **Cytotherapy**, v. 18, n. 2, p. 151-159, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.11.008>>. Acesso em: 02 jan. 2022. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.11.008.

GRINDEM, C. B., TYLER, R. D., COWELL, R. L. A Medula Óssea. In: COWELL, R. L., TYLER, R. D., MEINKOTH, J. H., DeNICOLA, DENNIS, B. **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. Cap. 27, p. 423-449.

HUANG, A. A.; MOORE, G. E.; SCOTT-MONCRIEFF, J. C. Idiopathic immune-mediated

thrombocytopenia and recent vaccination in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 1, p. 142-148, 2012. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00850.x>>. Acesso em: 20 dez. 2021. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00850.x.

LEVINE, D. N.; BROOKS, M. B. Immune thrombocytopenia (ITP): Pathophysiology update and diagnostic dilemmas. **Veterinary clinical pathology**, v. 48, p. 17-28, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/vcp.12774> > Acesso em 20 dez. 2021. doi: 10.1111/vcp.12774.

MATHIS, J. C.; YOO, S. H.; SULLIVAN, L. A. Diagnosis of secondary dysmyelopoiesis via costochondral rib aspirate in a dog. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 24, n. 6, p. 739-744, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/vec.12255>>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.1111/vec.12255.

MIZUKAMI, A.; SWIECH, K. Mesenchymal stromal cells: from discovery to manufacturing and commercialization. **Stem cells international**, v. 2018, 2018. . Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2018/4083921>>. Acesso em: 02 jan. 2022. doi: 10.1155/2018/4083921.

NAKAMURA, R. K.; TOMPKINS, E.; BIANCO, D. Therapeutic options for immune-mediated thrombocytopenia. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 22, n. 1, p. 59-72, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2011.00705.x>>. Acesso em: 18 dez. 2021. doi: 10.1111/j.1476-4431.2011.00705.x.

NORONHA, N. C. et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. **Stem cell research & therapy**, v. 10, n. 1, p. 1-21, 2019. . Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13287-019-1224-y>>. Acesso em: 02 jan. 2022. doi: 10.1186/s13287-019-1224-y.

PINTO, G. O. P. A. et al. Pancitopenia induzida em um cão pelo uso concomitante de fármacos mielotóxicos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, n. 1, p. 638, 2021. . Disponível em: <[http://www.ufrgs.br/actavet/49-suple-1/CR\\_638.pdf](http://www.ufrgs.br/actavet/49-suple-1/CR_638.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.22456/1679-9216.111295.

SÁNCHEZ, G. B. **Transplante de células-tronco mesenquimais alogênicas em cães com**

**meningoencefalomielite de origem desconhecida.** 2021. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 2021.

SANTOS, E. J. C. et al. Células-tronco mesenquimais alogênicas no tratamento das sequelas neurológicas de cinomose canina. **MEDVEP**, ed. 49, vol. 3, p. 32-40, 2019.

SCUDERI, M. A. et al. Outcome based on treatment protocol in patients with primary canine immune-mediated thrombocytopenia: 46 cases (2000–2013). **The Canadian Veterinary Journal**, v. 57, n. 5, p. 514, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827743/>>. Acesso em: 18 dez. 2021.

SCOTT, M. A. et al. Development of a sensitive immunoradiometric assay for detection of platelet surface-associated immunoglobulins in thrombocytopenic dogs. **American journal of veterinary research**, v. 63, n. 1, p. 124-129, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.2460/AJVR.2002.63.124>>. Acesso em: 18 dez. 2021. doi: 10.2460/AJVR.2002.63.124.

SCOTT-MONCRIEFF, J. C. R. Doenças Comumente Mediadas pelo Sistema Imune. In: NELSON, R.W; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. Cap. 101, p. 1417– 429.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Plaquetas. In\_\_\_\_\_. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. Cap. 4, p. 186-212.

SPEES, J. L.; LEE, R. H; GREGORY, C. A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. **Stem cell research & therapy**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-016-0363-7>>. Acesso em: 02 jan. 2022. doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.

WEISS, D. J. Bone marrow necrosis in dogs: 34 cases (1996–2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 2, p. 263-267, 2005. Disponível em:

<<https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.263>>. Acesso em: 12 jan. 2022. doi: 10.2460/javma.2005.227.263.

WEISS, D. J. et al. Drug-associated blood cell dyscrasias. **Compend Contin Educ Vet**, v. 34, n. 6, p. E2, 2012. Disponível em: <[http://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612\\_Wiess\\_CE.pdf](http://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/57/ff05d09de811e18eed005056ad4736/file/PV0612_Wiess_CE.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2022.

## ANEXO A: - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

### Normas para publicação

#### ESCOPO:

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.
2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados preferencialmente em idioma Inglês. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1ª rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso não traduzidos nesta etapa e se aprovados para publicação, terão que ser obrigatoriamente traduzidos para o Inglês por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

#### Empresas credenciadas:

- American Journal Express (<http://www.journalexperts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>) - Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates. - GlobalEdico (<http://www.gloaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>) - Paulo Boschcov ([paulo@bridgetextos.com.br](mailto:paulo@bridgetextos.com.br), [bridge.textecn@gmail.com](mailto:bridge.textecn@gmail.com))
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de

páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, exceto para artigos submetidos em português (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte tutorial. Não serão fornecidas separatas.

Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista [www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr).

8- Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

10.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery.**Philadelphia: Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros.**Manaus: INPA, 1979. 95p.

10.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A.A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid.** Baltimore. Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

10.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques.** 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte.** São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

10.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: . Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 . Disponível em: . Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

10.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

10.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

10.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

10.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

10.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. 35

GRIFON, D.M. Artroscopicdiagnosisofelbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes :Facultad de CienciasVeterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

11. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

12. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es)

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (com decisão de RejeccionResubmit) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por decurso de prazo não terão a taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.