

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 19/04/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONDUTO DE ORIENTAÇÃO NERVOSA FUNCIONALIZADO
COM CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES
PROMOVE A REGENERAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO EM
RATOS

DIEGO NOÉ RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

Botucatu - SP
Outubro de 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONDUTO DE ORIENTAÇÃO NERVOSA FUNCIONALIZADO
COM CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES
PROMOVE A REGENERAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO EM
RATOS

DIEGO NOÉ RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

Tese apresentada junto ao programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins
Amorim

Co-Orientador: Prof. Dr. Matheus
Bertanha

Botucatu - SP
Outubro de 2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Sánchez, Diego Noé Rodríguez.

Conduto de orientação nervosa funcionalizado com células estromais mesenquimais multipotentes promove a regeneração do nervo isquiático em ratos / Diego Noé Rodríguez Sánchez. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Rogério Martins Amorim
Coorientador: Matheus Bertanha
Capes: 50501062

1. Engenharia tecidual. 2. Nervos periféricos - Ferimentos e lesões. 3. Regeneração nervosa. 4. Células mesenquimais estromais. 5. Terapia celular.

Palavras-chave: Engenharia de tecidos; Impressão 3D; Lesão de nervo periférico; Regeneração nervosa; Terapia celular.

Nome do Autor: Diego Noé Rodríguez Sánchez

Título: CONDUTO DE ORIENTAÇÃO NERVOSA FUNCIONALIZADO COM CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES PROMOVE A REGENERAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO EM RATOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof. Dra. Juliany Gomes Quitzan

Membro

Departamento de Cirurgia veterinária e Reprodução Animal

FMVZ-UNESP-Botucatu

Profa. Dra. Fernanda da Cruz Landim

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ-UNESP-Botucatu

Profa. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira

Membro

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional

Instituto de Biologia-UNICAMP.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio

Membro

Departamento de Medicina Veterinária

FZEA-USP-Pirassununga

Data da defesa: 19 de outubro de 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Martins Amorim, pela orientação, apoio, incentivo, confiança e ensinamentos fornecidos, contribuindo na solidificação deste estudo.

Ao meu co-orientador, Prof. Matheus Bertanha, pela colaboração para o uso do laboratório de engenharia celular, possibilitando a realização do experimento.

Aos professores Dra. Elenice Deffune, Dr. Alexandre de Oliveira, Dr. Rui S. Ferreira, Dr. Jorge da Silva e Dra. Marjorie Golim, pela disponibilidade e colaboração para a realização deste projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro com bolsa de Doutorado (2016/14364-2).

À toda a equipe do laboratório de engenharia celular (LEC/FMB/Unesp), da unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX/FMB/Unesp) e do laboratório de Regeneração Nervosa (LRN/Unicamp) pelo apoio técnico, ensinamentos, parceria, colaboração e acolhimento para a realização deste estudo.

Aos colegas de trabalho e amigos, Mariana, Felipe, Leandro, Vick, Paulinha, Ana Lívia, Lenize, Luciana, Diego, José e Bardella pela ajuda concedida para a realização deste trabalho.

Aos amigos que estiveram ou não presentes neste caminho,

À minha família, aos meus pais Noé e Blanca e aos meus irmãos Daniel, Edison, Camilo, Sérgio pelo apoio incondicional, incentivo, força e principalmente pela vida para realizar a minha missão profissional.

À Giovana minha esposa, pelo incentivo e apoio incondicional, muito importantes no decorrer do meu crescimento profissional e pessoal.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Veterinária (FMVZ/Unesp), do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária e aos residentes da CMPA do hospital veterinário pelo apoio, colaboração e possibilidade de aplicação clínica dos conhecimentos adquiridos no estudo.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/Unesp/Botucatu), pela possibilidade de realizar a minha Pós-graduação, por ceder suas instalações e serviços para que esse trabalho pudesse ser realizado.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Iniciadores utilizados nas reações de qPCR nas MSC de cão.----- 23

Quadro 2. Condições de termociclagem das amplificações por qpcr.----- 24

Quadro 3. Iniciadores utilizados nas reações de qPCR do tecido medular. --- 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Anticorpos primários selecionados para a realização da imunomarcação no nervo isquiático. -----	31
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de ação proposto das células estromais mesenquimais multipotentes (MSC) na regeneração nervosa.....	14
Figura 2. Delineamento do experimento 1.	19
Figura 3. Delineamento do experimento 2..	20
Figura 4. Lesão experimental e reparo do nervo isquiático nos grupos experimentais.....	26
Figura 5. Caracterização das AdMSC de rato.....	34
Figura 6. Caracterização geométrica dos NGC de PCL fabricados pela impressão em 3D.....	35
Figura 7. Caracterização dos NGCc de PCL fabricados por impressão 3D. ...	36
Figura 8. Avaliação locomotora pelo índice de funcionalidade do nervo isquiático durante 12 semanas nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.....	37
Figura 9. Avaliação locomotora pelo índice de funcionalidade do tibial durante 12 semanas nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.....	38
Figura 10. Recuperação funcional locomotora (Catwalk) na semana 8 e 12 após a lesão experimental nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.	40
Figura 11. Latência e amplitude obtida no músculo tibial cranial na semana 8 e 12 nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.	41
Figura 12. Latência e amplitude obtidas nos músculos interósseos na semana 8 e 12 isquiático nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.	42
Figura 13. Análise da VCN na semana 8 e 12 nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCr.....	42
Figura 14. Aparência microscópica dos nervos isquiáticos 12 semanas após o reparo.....	44
Figura 15. Células estromais mesenquimais multipotentes derivadas do tecido adiposo canino.....	45
Figura 16. Caracterização das AdMSC de cão.	46
Figura 17. Expressão relativa dos genes BDNF, GDNF, HGF e IL-10 após a estimulação direta com IFN- γ	47
Figura 18. Avaliação locomotora através do IFNC e IFT durante 12 semanas nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCc.	49

Figura 19. Avaliação da marcha (Catwalk) na semana 8 e 12 após a lesão nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCc.	50
Figura 20. Latência e amplitude obtidas nos músculos interósseos nas semanas 8 e 12 após a lesão nos grupos Sham, GA, GPCL e GPCL+MSCc.	52
Figura 21. Distribuição de frequência da razão "g" e dot plot da razão "g"/diâmetro do axônio.	54
Figura 22. Aparência microscópica dos nervos isquiáticos 12 semanas após o reparo.....	55
Figura 23. Análise quantitativa da intensidade de fluorescência no nervo isquiático 30 dias após a lesão experimental e reparo.	56
Figura 24. Análise qualitativa da imunomarcacão do BDNF no nervo isquiático 30 dias após a lesão.	57
Figura 25. Análise qualitativa da imunomarcacão da neurotrofina GDNF no nervo isquiático 30 dias após a lesão..	58
Figura 26. Análise qualitativa da imunomarcacão do colágeno tipo IV no nervo isquiático 30 dias após a lesão.	59
Figura 27. Expressão relativa dos genes BDNF, GDNF, HGF e IL-10 na medula espinhal ipsilateral á lesão 30 dias após o reparo nos grupos Sham e GPCL+MSCc.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	tridimensional
AdMSC	células estromais mesenquimais multipotentes derivadas do tecido adiposo
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
bFGF	fator de crescimento dos fibroblastos básico
c-met	receptor do fator de crescimento de hepatócitos
CD	<i>cluster of differentiation</i>
cDNA	DNA complementar
COX-2	cicloxigenase-2
CTNF	fator neurotrófico ciliar
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle medium</i>
DMEM/F-12	<i>Dulbecco's modified Eagle medium/nutrient mixture F-12</i>
ENMG	eletroneuromiografia
FDM	<i>fused/filament deposition modeling</i>
FGF-2	fator de crescimento dos fibroblastos
GA	grupo autoenxerto
GAPDH	gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
GDNF	fator neurotrófico derivado da glia
GFP	proteína fluorescente verde
GPCL	grupo tratado com NGC de policaprolactona
GPCL+MSCc	grupo tratado com NGC e células estromais mesenquimais multipotentes de cão
GPCL+MSCr	grupo tratado com NGC e células estromais mesenquimais multipotentes de rato
HEPES	tamponador de ácido sulfônico zwitteriônico
HGF	fator de crescimento de hepatócitos
HPRT	hipoxantina fosforibosiltransferase
IDO	indoleamina 2,3- dioxigenase
IFN- β	interferon beta
IFNC	índice de funcionalidade do nervo isquiático
IFT	índice de funcionalidade do nervo tibial
IGF-1	fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
IL-1 α	interleucina alfa
IL-1 β	interleucina 1 beta
IL- 4	interleucina 4
IL-6	Interlecina 6
IL-8	interleucina 8
IL-10	interleucina 10
IL-12	interleucina 12
IL-13	interleucina 13
IL-27	interleucina 27
IL-31	interleucina 31
INF- γ	interferon-gama
LIF	fator inibidor de leucemia
M1	macrófagos pró-inflamatórios
M2	macrófagos anti-inflamatórios
MHC-I	complexo principal de histocompatibilidade classe I

MHC-II	complexo principal de histocompatibilidade classe II
mRNA	RNA mensageiro
MSC	células estromais mesenquimais multipotentes
NGC	<i>nerve guidance channels</i>
NGF	fator de crescimento do nervo
NT-3	neurotrofina-3
NT-4	neurotrofina-4
NT-5	neurotrofina-5
P75 ^{NTR}	receptores de baixa afinidade p75
PCL	policaprolactona
PGA	ácido poliglicólico
PGE2	prostaglandina E2
qPCR	reação em cadeia da polimerase em tempo real
SFB	soro fetal bovino
Sham	grupo Sham
SLPi	proteína inibidora de protease secretada por leucócitos
SNP	sistema nervoso periférico
TGF- α	fator de transformação do crescimento alfa
TGF- β	fator de transformação do crescimento beta
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
TNF- β	fator de necrose tumoral beta
Trks	receptores de alta afinidade tirosina quinase
VCN	velocidade de condução nervosa
VEGF	fator de crescimento do endotélio vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 <i>Lesões traumáticas do sistema nervoso periférico</i>	7
2.1.1 <i>Degeneração nervosa</i>	7
2.1.2 <i>Regeneração axonal</i>	8
2.2 <i>Engenharia de tecidos e medicina regenerativa no sistema nervoso periférico</i>	9
2.2.1 <i>Regeneração dentro de condutos de orientação nervosa ((nerve guidance channels (NGCs))</i>	9
2.2.2 <i>Terapias com fatores de crescimento</i>	11
2.2.3 <i>Terapias baseadas em células</i>	12
2.2.4 <i>Potencial mecanismo de ação das MSC na regeneração nervosa</i>	13
2.3 <i>Rol das citocinas neuropoiéticas no trauma de nervos</i>	14
2.4 <i>Sinais de ativação das MSC</i>	15
3 HIPÓTESE	17
4 OBJETIVOS	17
4.1 <i>Objetivo geral</i>	17
4.2 <i>Objetivos específicos</i>	17
5 MATERIAIS E MÉTODOS	18
5.1 <i>Animais experimentais</i>	18
5.1.2 <i>Experimento 1</i>	18
5.1.3 <i>Experimento 2</i>	19
5.2 <i>Isolamento e caracterização das AdMSC</i>	21
5.2.1 <i>Diferenciação adipogênica, condrogênica e osteogênica das AdMSCs</i>	21
5.2.2 <i>Citometria de fluxo das AdMSC</i>	22
5.2.3 <i>Avaliação da expressão genica das AdMSC de cão após a estimulação com interferon-gama (INF-γ)</i>	22
5.3 <i>Modelamento, impressão em 3D e construção dos NGCs</i>	24
5.4 <i>Lesão traumática e reparo do nervo isquiático</i>	25
5.5 <i>Índice de funcionalidade do nervo ciático (IFNC) e tibial (IFT)</i>	27
5.6 <i>Avaliação da marcha – Catwalk</i>	28
5.7 <i>Avaliação eletrofisiológica</i>	28
5.8 <i>Preparação dos espécimes e análise morfométrica</i>	29
5.9 <i>Imunofluorescência do nervo isquiático (S-100, neurofilamento, BDNF, GDNF, P75^{NTR} e colágeno IV)</i>	30
5.10 <i>Expressão gênica dos fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e HGF) e citocinas (IL-6 e IL-10) na medula espinhal</i>	31
5.11 <i>Análise estatística</i>	32
6 RESULTADOS	33
6.1 <i>Resultados do experimento 1</i>	33

6.1.1 As AdMSC de rato mostraram origem mesenquimal -----	33
6.1.2 Análise ultraestrutural dos NGCs fabricados por impressão 3D -----	34
6.1.3 Os NGC funcionalizados com AdMSC de rato apresentaram efeitos positivos na recuperação funcional -----	37
6.1.4 Os NGC funcionalizados com AdMSC de rato estimularam a recuperação da marcha-----	39
6.1.5 Os NGC funcionalizados com AdMSC de rato incrementaram na recuperação eletrofisiológica -----	40
6.1.6 Os NGC funcionalizados com AdMSC de rato mostraram tendência a presença de axônios de maior diâmetro -----	43
6.2 Resultados do experimento 2 -----	44
6.2.1 As AdMSC de cão apresentaram características mesenquimais -----	44
6.2.2 A capacidade neurotrófica e anti-inflamatória das AdMSC de cão foi incrementada após a estimulação com IFN- γ -----	46
6.2.3 Os NGC funcionalizados com AdMSC de cão aumentaram a recuperação funcional motora-----	47
6.2.4 Os NGC funcionalizados com AdMSC de cão apresentaram efeitos positivos na recuperação da marcha -----	49
6.2.5 Os NGC funcionalizados com AdMSC de cão apresentaram efeitos positivos na recuperação eletrofisiológica-----	51
6.2.6 Os NGC funcionalizados com AdMSC de cão mostraram tendência a presença de axônios de maior diâmetro -----	52
6.2.7 Os NGC funcionalizados com AdMSC de cão estimularam a expressão do P75 ^{NTR} e apresentaram preservação da reatividade das células de Schwann----	55
6.2.8 Os NGC funcionalizados com AdMSC estimularam a expressão de BDNF e GDNF e colágeno tipo IV no nervo isquiático -----	56
6.2.9 Os NGC funcionalizados com AdMSC evidenciaram <i>up-regulation</i> de BDNF, GDNF e HGF na medula espinhal lombossacral-----	60
7 DISCUSSÃO -----	61
7.1 Experimento 1-----	62
7.2 Experimento 2-----	65
8 CONCLUSÕES-----	70
8.1 Experimento 1-----	70
8.2 Experimento 2-----	71
9 BIBLIOGRAFIA -----	72
10 TRABALHO CIENTIFICO a ser enviado para a revista “Stem Cell Research and Therapy”. -----	83
Anexos -----	124

RODRIGUEZ-SANCHEZ, D.N. **Conduto de orientação nervosa funcionalizado com células estromais mesenquimais multipotentes promove a regeneração do nervo isquiático em ratos.** Botucatu, 2020. 124p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

As lesões traumáticas do sistema nervoso periférico (SNP) são altamente debilitantes, levando a déficits sensório-motores a longo prazo. A regeneração nervosa depende de um microambiente permissivo para o crescimento axonal, associado a presença de moléculas solúveis bioativas. Neste sentido, o uso das células estromais mesenquimais multipotentes derivadas do tecido adiposo (AdMSC) em combinação com condutos de orientação nervosa (NGC) poderiam acarretar estratégias promissoras para a regeneração nervosa. Ratos Wistar foram submetidos a lesão crítica do nervo isquiático (12 mm de *gap*) e divididos em grupos experimentais: Sham (abordagem do nervo isquiático sem alterações), GA (técnica de autoenxerto), GPCL (tubulação com NGC vazio), GPCL+MSCc (tubulação com NGC + 10^6 AdMSC de cão embebidas em biopolímero de fibrina) e GPCL+MSCr (tubulação com NGC + 10^6 AdMSC de rato embebidas em biopolímero de fibrina). Os NGC de policaprolactona (PCL) foram fabricados por impressão 3D. As AdMSC de cão foram caracterizadas *in vitro* e foi avaliado o potencial neuroregenerativo após a estimulação com INF- γ (BDNF, GDNF, HGF e IL-10). Foram avaliados o índice de funcionalidade do nervo isquiático e tibial durante 12 semanas *in vivo*. A análise da marcha e a eletroneuromiografia foram avaliadas nas semanas 8 e 12. Foi realizada a morfometria *post-mortem* nas semanas 8 e 12 após o reparo nervoso. Trinta dias após a lesão nos grupos GPCL+MSCc e Sham, foram analisadas a expressão de fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e o receptor p75^{NTR}) e a reatividade das células de Schwann (S-100 e neurofilamento) pela imunofluorescência, e a expressão gênica na medula espinhal (BDNF, GDNF, HGF, IL-6 e IL-10). A estimulação com INF- γ aumentou a expressão gênica de BDNF, GDNF, HGF e IL-10 nas AdMSC de cão. Os grupos GPCL+MSCc e GPCL+MSCr apresentaram recuperação motora e eletrofisiológica quando comparados ao grupo GPCL em

8 e 12 semanas. Porém, os valores não foram superiores ao autoenxerto. Os achados foram relacionados a presença de fibras mielinizadas, maior expressão de BDNF, GDNF e P75^{NTR} no nervo isquiático e a *up-regulation* de *BDNF*, *GDNF* e *HGF* na medula espinhal. Foi observada tendência a maior reatividade das células de Schwann e ramificação axonal no nervo isquiático. A combinação de NGC impressos em 3D e funcionalizados com AdMSC de cão e de rato mostraram efeitos neuroprotetores. A associação de AdMSC e biopolímero de fibrina suportaram o microambiente trófico e estimularam o estado pró-regenerativo na lesão crítica do nervo isquiático em ratos.

Palavras-chave: bainha de mielina, engenharia de tecidos, impressão 3D, lesão de nervo periférico, neurotinese, regeneração nervosa, policaprolactona, terapia celular,

RODRIGUEZ-SANCHEZ, D.N. **Nerve guidance channels functionalized with multipotent mesenchymal stromal cells promotes sciatic nerve regeneration in rats.** Botucatu, 2020. 124p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Peripheral nervous injuries (PNS) are highly debilitating, leading to long-term motor and sensory deficits. Nerve regeneration depends of the permissive microenvironment for axonal growth associated to bioactive molecules. In this sense, the use of multipotent mesenchymal stromal cells adipose tissue derived (AdMSC) in combination with nerve guidance conduits (NGC) could be promising strategies for nerve regeneration. Wistar rats were submitted to critical sciatic nerve injury (12 mm gap) and divided into experimental groups: Sham, GA (autograft), GPCL (empty NGC), GPCL + MSCc (NGC + 10^6 plus canine AdMSC embedded in fibrin biopolymer), GPCL + MSCr (NGC + 10^6 plus rat AdMSC embedded in fibrin biopolymer). Polycaprolactone (PCL) NGC was manufactured by 3D printing. *In vitro*, regenerative potential was evaluated after INF- γ stimulation (BDNF, GDNF, HGF and IL-10). *In vivo*, were measure the sciatic ant tibial functional index for 12 weeks. Gait analysis and electroneuromyography were performed at 8 and 12 weeks. *Post-mortem*, morphometric analysis was made at 8 and 12 weeks after nerve repair. Thirty days after lesion in the GPLC+MSCc and Sham, were evaluated the expression of neurotrophins (BDNF, GDNF and p75^{NTR} receptor), Schwann cells reactivity by immunofluorescence (S-100 and neurofilament) and gene expression in the spinal cord (BDNF, GDNF, HGF, IL-6 and IL-10). The stimulation with INF- γ increased gene expression on canine AdMSC *in vitro* for BDNF, GDNF, HGF and IL-10. The groups GPCL+MSCc and GPCL+MSCr showed functional motor and electrophysiological motor recovery when compared with the GPCL group at 8 and 12 weeks. However, the values were not superior to GA group. These findings were related to presence of myelinated fibers, increased of neurotrophins expression BDNF, GDNF and p75^{NTR} on sciatic nerve and *up-regulation* of the BDNF, GDNF and HGF in the spinal cord. A trend towards greater reactivity of Schwann cells and axonal branching in the sciatic nerve were observed. The

combination of NGC 3D-printing and functionalized with canine and rat AdMSC showed neuroprotective effects. The association of canine or rat AdMSC and fibrin biopolymer support trophic microenvironment and stimulate a pro-regenerative state in severe sciatic nerve injury in rats.

Keywords: myelin sheath, tissue engineering, 3D printing, nerve injury, neurotmesis, nerve regeneration, cell-therapy, polycaprolactone

1 INTRODUÇÃO

As lesões traumáticas do sistema nervoso periférico (SNP) são relativamente frequentes em humanos e animais, sendo altamente debilitantes devido às perdas sensório/motoras persistentes que afetam a qualidade de vida do paciente (FORTERRE et al., 2007; KOUYOUMDJIAN, 2006; VAN SOENS et al., 2009).

Embora o SNP apresente uma capacidade de regeneração endógena associada a complexa interação entre a degeneração *Walleriana*, a resposta imunológica e as moléculas pró-regenerativas, as lesões com defeitos longos (*long-gaps*) perdem o suporte trófico entre o segmento proximal lesionado e o músculo, resultando em falha da regeneração nervosa (CAMPBELL, 2008; FORTERRE et al., 2007). O autoenxerto é a técnica padrão para reparo de lesões de *long-gaps*, entretanto, apresenta limitações associadas a recuperação funcional incompleta, lesão do nervo doador e insuficiente revascularização (RAY; MACKINNON, 2010).

Condutores de orientação nervosa (*nerve guidance channels* (NGC)) têm sido utilizados em defeitos com *long-gaps*, visando conduzir os axônios regenerantes e aumentar a concentração de fatores tróficos (DODLA et al., 2019; NECTOW; MARRA; KAPLAN, 2012). Diversos NGCs usando diferentes técnicas de fabricação convencionais foram desenvolvidos baseando-se em biomateriais (ANGIUS et al., 2012; NECTOW; MARRA; KAPLAN, 2012; TYNER et al., 2007), contudo os resultados funcionais não mostraram superioridade a técnica de autoenxerto (KONOFAOS; VER HALEN, 2013; MOORE et al., 2009; RAY; MACKINNON, 2010; SALTZMAN et al., 2019; WAITAYAWINYU et al., 2007; WU et al., 2016).

A engenharia de tecidos apresenta três pilares: 1) *scaffolds*; 2) células e 3) fatores de crescimento. A interação e combinação dos três componentes poderia contribuir na restauração do tecido nervoso danificado (LANGER; VACANTI, 1999). Recentemente, as técnicas de biofabricação como a impressão tridimensional (3D) permitem a construção de *scaffolds* com o objetivo de regenerar tecidos com arquiteturas complexas (PEDDE et al., 2017). A construção de NGC por impressão 3D apresenta vantagens, como estabilidade mecânica, alta porosidade, geometria biomimética, reprodutibilidade e

adaptabilidade a diversos polímeros (PEDDE et al., 2017; ZHU et al., 2018). A policaprolactona (PCL) pertence ao grupo dos poliésteres sintéticos termosensíveis e se destaca pela biocompatibilidade, permeabilidade e degradação (NECTOW; MARRA; KAPLAN, 2012).

Na engenharia de tecidos, as células estromais mesenquimais multipotentes (*multipotent mesenchymal stromal cells*, MSC) derivadas do tecido adiposo (*adipose-tissue derived multipotent mesenchymal stromal cells*, AdMSC) dispõem de relevante potencial translacional (CASEIRO et al., 2016; KISIEL et al., 2012; MARTINELLO et al., 2011; VIEIRA et al., 2010). Estudos prévios evidenciaram o potencial terapêutico das AdMSC associado a produção de fatores neurotróficos, anti-inflamatórios, imunomoduladores e pró-angiogênicos (CASEIRO et al., 2016; LOPATINA et al., 2011; TOMITA et al., 2012; UCCELLI; MORETTA; PISTOIA, 2008).

A atividade parácrina das AdMSC depende da persistência, viabilidade, capacidade de migração e integração no microambiente inflamatório local (KISIEL et al., 2012; NORONHA et al., 2019). Neste sentido, matrizes biológicas como biopolímero de fibrina poderiam contribuir como veículo terapêutico para sustentar as MSC aplicadas no local da lesão e por sua vez os fatores secretados (BARROS et al., 2009; BISCOLA et al., 2016). Diversos estudos revelaram o potencial terapêutico do biopolímero de fibrina em lesões traumáticas de medula espinhal e raízes nervosas (ARAÚJO et al., 2017; BARBIZAN et al., 2013; BISCOLA et al., 2017; DE CASTRO et al., 2016). Nós hipotetizamos se NGC de PCL fabricados por impressão 3D e funcionalizados com AdMSC promovem a regeneração após a lesão experimental crítica do nervo isquiático em ratos.

9 BIBLIOGRAFIA

AGGARWAL, S. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. **Blood**, v. 105, n. 4, p. 1815–1822, 2005.

ALLODI, I.; UDINA, E.; NAVARRO, X. Specificity of peripheral nerve regeneration: Interactions at the axon level. **Progress in Neurobiology**, v. 98, n. 1, p. 16–37, 2012.

AMORIM, R. M. et al. Placenta-derived multipotent mesenchymal stromal cells: a promising potential cell-based therapy for canine inflammatory brain disease. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 11, n. 1, p. 304, 2020.

ANGIUS, D. et al. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. **Biomaterials**, v. 33, n. 32, p. 8034–9, 2012.

ARAÚJO, M. R. et al. Transgenic human embryonic stem cells overexpressing FGF2 stimulate neuroprotection following spinal cord ventral root avulsion. **Experimental Neurology**, v. 294, p. 45–57, 2017.

ASPLUND, M. et al. Incidence of traumatic peripheral nerve injuries and amputations in Sweden between 1998 and 2006. **Neuroepidemiology**, v. 32: p. 217-28, 2009.

AUSTIN, P. J.; MOALEM-TAYLOR, G. The neuro-immune balance in neuropathic pain: Involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. **Journal of Neuroimmunology**, v. 229(1-2), p. 26-50, 2010.

BAIN, J. R.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A. Functional Evaluation of Complete Sciatic, Peroneal, and Posterior Tibial Nerve Lesions in the Rat. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 83, n. 1, p. 129–136, 1989.

BARBIZAN, R. et al. Motor Recovery and Synaptic Preservation after Ventral Root Avulsion and Repair with a Fibrin Sealant Derived from Snake Venom. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. 1–12, 2013.

BARROS, L. C. et al. A new fibrin sealant from crotalus durissus terrificus venom: Applications in medicine. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews**, v. 12, n. 8, p. 553–571, 2009.

BAUER, S.; KERR, B. J.; PATTERSON, P. H. The neuropoietic cytokine family in development, plasticity, disease and injury. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8(3), p. 221-32, 2007.

BISCOLA, N. P. et al. Long-standing motor and sensory recovery following acute fibrin sealant based neonatal sciatic nerve repair. **Neural Plasticity**, v. 2016, 2016:9028126.

BISCOLA, N. P. et al. Multiple uses of fibrin sealant for nervous system treatment following injury and disease. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 23, n. 1, p. 1–11, 2017.

BOLDYREVA, M. et al. Plasmid-based gene therapy with hepatocyte growth factor stimulates peripheral nerve regeneration after traumatic injury. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 101, p. 682–690, 2018.

BOYD, J. G.; GORDON, T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. **European Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 613–626, 2002.

BOYD, J. G.; GORDON, T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. **Molecular neurobiology**, v. 27, n. 3, p. 277–324, 2003a.

BOZKURT, A. et al. Aspects of static and dynamic motor function in peripheral nerve regeneration: SSI and CatWalk gait analysis. **Behavioural Brain Research**, v. 219, n. 1, p. 55–62, 2011.

BROHLIN, M. et al. Aging effect on neurotrophic activity of human mesenchymal stem cells. **PloS one**, v. 7, n. 9, p. e45052, 2012.

BROWN, R. A.; PHILLIPS, J. B. Cell Responses to Biomimetic Protein Scaffolds Used in Tissue Repair and Engineering. **International Review of Cytology**, v. 262, n. 07, p. 75–150, 2007.

CAMPBELL, W. W. Evaluation and management of peripheral nerve injury. **Clinical Neurophysiology**, v. 119, n. 9, p. 1951–1965, 2008.

CARTAROZZI, L. P. et al. Mesenchymal stem cells engrafted in a fibrin scaffold stimulate Schwann cell reactivity and axonal regeneration following sciatic nerve tubulization. **Brain Research Bulletin**, v. 112, p. 14–24, mar. 2015.

CASEIRO, A. R. et al. Neuromuscular Regeneration: Perspective on the Application of Mesenchymal Stem Cells and Their Secretion Products. **Stem Cells International**, v. 2016, p. 1–16, 2016.

CHAMBERLAIN, G. et al. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. **Stem cells**, v. 25, n. 11, p. 2739–2749, 2007.

CHEN, Z.-L.; YU, W.-M.; STRICKLAND, S. Peripheral regeneration. **Annual review of neuroscience**, v. 30, p. 209–233, 2007.

CHU, T.-H.; WU, W. Neurotrophic Factor Treatment After Spinal Root Avulsion Injury. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, 2011.

COLEMAN, M. Axon degeneration mechanisms: commonality amid diversity. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 6, n. 11, p. 889–898, 2005.

CONFORTI, L.; GILLEY, J.; COLEMAN, M. P. Wallerian degeneration: an emerging axon death pathway linking injury and disease. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 15, n. 6, p. 394–409, 2014.

COSGAYA, J. M.; CHAN, J. R.; SHOOTER, E. M. The neurotrophin receptor p75NTR as a positive modulator of myelination. **Science**, v. 298(5596), p.1245–8, 2002.

DAI, L. G.; HUANG, G. S.; HSU, S. H. Sciatic nerve regeneration by cocultured schwann cells and stem cells on microporous nerve conduits. **Cell Transplantation**, v. 22, n. 11, p. 2029–2039, 2013.

DE BAKKER, E. et al. Canine mesenchymal stem cells: state of the art, perspectives

as therapy for dogs and as a model for man. **The Veterinary quarterly**, v. 2176, n. December 2014, p. 1–9, 2014.

DE CASTRO, M. V. et al. Direct Spinal Ventral Root Repair following Avulsion: Effectiveness of a New Heterologous Fibrin Sealant on Motoneuron Survival and Regeneration. **Neural Plasticity**, v. 2016, 2016.

DE RUITER, G. C. W. et al. Designing ideal conduits for peripheral nerve repair. **Neurosurgical Focus**, v. 26, n. 2, p. E5, 2009.

DE RUITER, G. C. W. et al. Misdirection and guidance of regenerating axons after experimental nerve injury and repair. **Journal of Neurosurgery**, v. 120, p. 493–501, 2014.

DE WITTE, S. F. H. et al. Toward development of mesenchymal stem cells for immunomodulatory therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. 6, p. 648, 2016.

DEFRANCESCO-LISOWITZ, A. et al. The neuroimmunology of degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. **Neuroscience**, v. 302, p. 174–203, 2015.

DEN DUNNEN, W. F. A. et al. Biological performance of a degradable poly(lactic acid- ϵ -caprolactone) nerve guide: Influence of tube dimensions. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29(6), p. 757-66, 1995.

DEZAWA, M. et al. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of in vitro differentiated bone-marrow stromal cells. **European Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 11, p. 1771–1776, 2001.

DI SUMMA, P. G. et al. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. **Neuroscience**, v. 181, p. 278–291, 2011.

DODLA, M. C. et al. Peripheral Nerve Regeneration. In: **Principles of Regenerative Medicine**. [s.l.] Elsevier, 2019. v. 5p. 1223–1236.

DOMINICI, M. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, p. 315-317, 2006.

DU, J.; JIA, X. Engineering nerve guidance conduits with three-dimensional bioprinting technology for long gap peripheral nerve regeneration. **Neural Regeneration Research**, v. 14, n. 12, p. 2073–2074, 2019.

DUBOVÝ, P.; JANČÁLEK, R.; KUBEK, T. Role of inflammation and cytokines in peripheral nerve regeneration. **International review of neurobiology**, v. 108, p. 173-296, 2013.

DUBOVÝ, P.; KLUSÁKOVÁ, I.; HRADILOVÁ SVÍŽENSKÁ, I. Inflammatory profiling of Schwann cells in contact with growing axons distal to nerve injury. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

ELEUTERI, S.; FIERABRACCI, A. Insights into the Secretome of Mesenchymal Stem Cells and Its Potential Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4597, 17 set. 2019.

ENGLISH, K. et al. IFN- γ and TNF- α differentially regulate immunomodulation by murine mesenchymal stem cells. **Immunology Letters**, v. 15, n. 110(2), p. 91-100, 2007.

FADIA, N. B. et al. Long-gap peripheral nerve repair through sustained release of a neurotrophic factor in nonhuman primates. **Science Translational Medicine**, v. 12, n. 527, p. eaav7753, 2020.

FORTERRE, F. et al. Iatrogenic sciatic nerve injury in eighteen dogs and nine cats (1997-2006). **Veterinary Surgery**, v. 36, n. 5, p. 464-471, 2007.

FRATTINI, F. et al. Mesenchymal stem cells in a polycaprolactone conduit promote sciatic nerve regeneration and sensory neuron survival after nerve injury. **Tissue Engineering Part A**, v. 18, n. 19-20, p. 2030-2039, 2012.

FROSTICK, S. P.; YIN, Q.; KEMP, G. J. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. **Microsurgery**, v. 118(7), p. 397-405, 1998.

FU, S. Y.; GORDON, T. Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged denervation. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 15, n. 5, p. 3886-95, 1995.

GASPAROTTO, V. P. O. et al. A new fibrin sealant as a three-dimensional scaffold candidate for mesenchymal stem cells. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 5, n. 3, 2014.

GEUNA, S. et al. Tissue engineering and peripheral nerve reconstruction: An overview. **International review of neurobiology**, v. 108, p. 35-57, 2013.

GILLEN, C.; JANDER, S.; STOLL, G. Sequential expression of mRNA for proinflammatory cytokines and interleukin-10 in the rat peripheral nervous system: Comparison between immune-mediated demyelination and Wallerian degeneration. **Journal of Neuroscience Research**, v. 51, n. 4, p. 489-496, 1998.

GLASS, J. D. Wallerian degeneration as a window to peripheral neuropathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 220, n. 1-2, p. 123-124, 2004.

GÖLZ, G. et al. The cytokine/neurotrophin axis in peripheral axon outgrowth. **European Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 10, p. 2721-2730, 2006.

GORDON, T.; SULAIMAN, O.; BOYD, J. G. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 8, n. 4, p. 236-250, 2003.

GRIFFIN, J. W. et al. Peripheral Nerve Repair and Reconstruction. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 95, n. 23, p. 2144-2151, 2013.

GRIMOLDI, N. et al. Stem cell salvage of injured peripheral nerve. **Cell Transplantation**, v. 24, n. 2, p. 213-222, 2015.

GU, Y. et al. Neurotrophic actions of bone marrow stromal cells on primary culture of dorsal root ganglion tissues and neurons. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 40(3), p. 332-41, 2010.

HAUSOTT, B.; KLIMASCHEWSKI, L. Membrane turnover and receptor trafficking in

regenerating axons. **European Journal of Neuroscience**, v. 43(3), p. 309-17, 2016.

HÖKE, A. Mechanisms of Disease: what factors limit the success of peripheral nerve regeneration in humans? **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 2, n. 8, p. 448–454, 2006.

HOOD, B.; LEVENE, H. B.; LEVI, A. D. Transplantation of autologous Schwann cells for the repair of segmental peripheral nerve defects. **Neurosurgical Focus**, v. 26, n. 2, p. E4, 2009.

HSIEH, S. C. et al. Effect of an epineurial-like biohybrid nerve conduit on nerve regeneration. **Cell Transplantation**, v. 25, n. 3, p. 559–574, 2016.

HSU, M. N. et al. Adipose-derived stem cell sheets functionalized by hybrid baculovirus for prolonged GDNF expression and improved nerve regeneration. **Biomaterials**, v. 140, p. 189-200, 2017.

HU, N. et al. Long-term outcome of the repair of 50 mm long median nerve defects in rhesus monkeys with marrow mesenchymal stem cells-containing, chitosan-based tissue engineered nerve grafts. **Biomaterials**, v. 34, n. 1, p. 100–11, 2013.

JESURAJ, N. J. et al. A systematic evaluation of Schwann cell injection into acellular cold-preserved nerve grafts. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 30, n. 197(2), p. 209-15, 2011.

JOHNSON, B. N. et al. 3D Printed Anatomical Nerve Regeneration Pathways. **Advanced Functional Materials**, v. 25, n. 39, p. 6205–6217, 2015.

KALBERMATTEN, D. F. et al. Fibrin matrix for suspension of regenerative cells in an artificial nerve conduit. **Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery**, v. 61, n. 6, p. 669–675, 2008.

KEILHOFF, G.; FANSA, H. Mesenchymal stem cells for peripheral nerve regeneration-A real hope or just an empty promise? **Experimental Neurology**, v. 232, n. 2, p. 110–113, 2011.

KINGHAM, P. J. et al. Stimulating the neurotrophic and angiogenic properties of human adipose-derived stem cells enhances nerve repair. **Stem cells and development**, v. 23, n. 7, p. 741–54, 1 abr. 2014.

KINNAIRD, T. et al. Marrow-Derived Stromal Cells Express Genes Encoding a Broad Spectrum of Arteriogenic Cytokines and Promote In Vitro and In Vivo Arteriogenesis Through Paracrine Mechanisms. **Circulation Research**, v. 19, n. 94(5), p. 678-85, 2004.

KISIEL, A. H. et al. Isolation, characterization, and in vitro proliferation of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 8, p. 1305–1317, 2012.

KLIMASCHEWSKI, L.; HAUSOTT, B.; ANGELOV, D. N. The pros and cons of growth factors and cytokines in peripheral axon regeneration. **International review of Neurobiology**, v. 108, p. 137-171, 2013.

KO, K. R. et al. Hepatocyte Growth Factor (HGF) Promotes Peripheral Nerve

Regeneration by Activating Repair Schwann Cells. **Scientific Reports**, v. 8(1), p. 8316, 2018.

KOEPPEN, A. H. Wallerian degeneration: history and clinical significance. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 220, n. 1–2, p. 115–117, 2004.

KOKAI, L. E. et al. Diffusion of soluble factors through degradable polymer nerve guides: Controlling manufacturing parameters. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 7, p. 2540–2550, 2009.

KONOFAOS, P.; VER HALEN, J. P. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. **Journal of reconstructive microsurgery**, v. 29, n. 3, p. 149–64, mar. 2013.

KOUYOUMDJIAN, J. A. Peripheral nerve injuries: A retrospective survey of 456 cases. **Muscle and Nerve**, v. 34, n. 6, p. 785–788, 2006.

LANGER, R. S.; VACANTI, J. P. Tissue engineering: the challenges ahead. **Scientific American**, v. 280, p. 86-89, 1999.

LEE, S.-J. et al. Fabrication of a Highly Aligned Neural Scaffold via a Table Top Stereolithography 3D Printing and Electrospinning. **Tissue Engineering Part A**, v. 23, n. 11–12, p. 491–502, 2017a.

LEE, S. J. et al. Development of novel 3-D printed scaffolds with core-shell nanoparticles for nerve regeneration. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 64, n. 2, p. 408–418, 2017b.

LIN, Y.; HOGAN, W. J. Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells in the Treatment and Prevention of Graft-versus-Host Disease. **Advances in Hematology**, v. 2011, p. 1–17, 2011.

LIU, G. et al. Transplantation of adipose-derived stem cells for peripheral nerve repair. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 28(4), p. 565-72, 2011.

LOPATINA, T. et al. Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth De Novo. **PLoS ONE**, v. 6, n. 3, 2011.

LOPES-FILHO, J. D. et al. Microscopic evidences that bone marrow mononuclear cell treatment improves sciatic nerve regeneration after neurorrhaphy. **Microscopy Research and Technique**, v. 363, p. 355-63, 2010.

LUNDBORG, G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. **The Journal of Hand Surgery**, v. 25, n. 3, p. 391–414, 2000.

MARTINELLO, T. et al. Canine adipose-derived-mesenchymal stem cells do not lose stem features after a long-term cryopreservation. **Research in Veterinary Science**, v. 91, n. 1, p. 18–24, 2011.

MAURMANN, N. et al. Mesenchymal stem cells cultivated on scaffolds formed by 3D printed PCL matrices, coated with PLGA electrospun nanofibers for use in tissue engineering. **Biomedical Physics and Engineering Express**, v. 3, n. 4, p. 45005, 2017.

MINNONE, G.; DE BENEDETTI, F.; BRACCI-LAUDIERO, L. NGF and its receptors in the regulation of inflammatory response. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 18(5), p.1028, 2017.

MOORE, A. M. et al. Limitations of Conduits in Peripheral Nerve Repairs. **HAND**, v. 4, n. 2, p. 180–186, 2009.

MORODER, P. et al. Material properties and electrical stimulation regimens of polycaprolactone fumarate-polypyrrole scaffolds as potential conductive nerve conduits. **Acta Biomaterialia**, v. 7(3), 944-53, 2011.

MURPHY, P. G. et al. Reciprocal actions of interleukin-6 and brain-derived neurotrophic factor on rat and mouse primary sensory neurons. **European Journal of Neuroscience**, v. 12(6), p. 1891-9, 2000.

MURRAY, P. J.; WYNN, T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. **Nature Reviews Immunology**, v. 14; n. 11(11), p. 723-37, 2011.

NAKAMURA, T.; MIZUNO, S. The discovery of Hepatocyte Growth Factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. **Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences**, v. 86(6), p. 588-610, 2010.

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

NAVARRO, X. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration and target reinnervation in animal models: A critical overview. **European Journal of Neuroscience**, v. 43, n. 3, p. 271–286, 2016.

NAVARRO, X.; VERDÚ, E.; BUTÍ, M. Comparison of Regenerative and Reinnervating Capabilities of Different Functional Types of Nerve Fibers. **Experimental Neurology**, v. 129, n. 2, p. 217–224, 1994.

NECTOW, A. R.; MARRA, K. G.; KAPLAN, D. L. Biomaterials for the Development of Peripheral Nerve Guidance Conduits. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 18, n. 1, p. 40–50, 2012.

NOBLE, J. et al. Analysis of Upper and Lower Extremity Peripheral Nerve Injuries in a Population of Patients with Multiple Injuries. **The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care**, v. 45, n. 1, p. 116–122, jul. 1998.

NORONHA, N. D. C. et al. Correction to: Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 10, n. 1, p. 132, 17 dez. 2019.

O'BRIEN, C. M. et al. Three-Dimensional Printing of Nanomaterial Scaffolds for Complex Tissue Regeneration. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 21, n. 1, p. 103–114, 2015.

OLIVEIRA, A. L. R.; VIDAL, B. D. C.; LANGONE, F. Naturally Supraorganized Collagen Increases Axonal Regeneration After Tubulization Repair. v. 22, n. 3, p. 143–148, 2005.

OLIVEIRA, J. T. et al. Mesenchymal stem cells in a polycaprolactone conduit enhance

median-nerve regeneration, prevent decrease of creatine phosphokinase levels in muscle, and improve functional recovery in mice. **Neuroscience**, v. 170, n. 4, p. 1295–303, 2010.

OLIVEIRA, J. T. et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for improving nerve regeneration. **Internatinal review of Neurobiology**, v. 108, p. 59–77, 2013.

PARK, W. B. et al. The effect of mesenchymal stem cell transplantation on the recovery of bladder and hindlimb function after spinal cord contusion in rats. **BMC Neuroscience**, v. 16, p.11:119, 2010.

PEDDE, R. D. et al. Emerging Biofabrication Strategies for Engineering Complex Tissue Constructs. **Advanced Materials**, v. 29, n. 19, 2017.

PHINNEY, D. G.; PROCKOP, D. J. Concise Review: Mesenchymal Stem/Multipotent Stromal Cells: The State of Transdifferentiation and Modes of Tissue Repair-Current Views. **Stem Cells**, v. 25, n. 11, p. 2896–2902, 2007.

POLACEK, M. et al. The secretory profiles of cultured human articular chondrocytes and mesenchymal stem cells: Implications for autologous cell transplantation strategies. **Cell Transplantation**, v. 20, n. 9, p. 1381–1393, 2011.

POLCHERT, D. et al. IFN- γ activation of mesenchymal stem cells for treatment and prevention of graft versus host disease. **European Journal of Immunology**, v. 38, n. 6, p. 1745–1755, 2008.

RAJARAM, A.; CHEN, X.-B.; SCHREYER, D. J. Strategic Design and Recent Fabrication Techniques for Bioengineered Tissue Scaffolds to Improve Peripheral Nerve Regeneration. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 18, n. 6, p. 454–467, 2012.

RAY, W. Z.; MACKINNON, S. E. Management of nerve gaps: Autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy. **Experimental Neurology**, v. 223, n. 1, p. 77–85, 2010.

REID, A. J. et al. Nerve repair with adipose-derived stem cells protects dorsal root ganglia neurons from apoptosis. **Neuroscience**, v. 199, p. 515–522, 2011.

REID, A. J. et al. Long term peripheral nerve regeneration using a novel PCL nerve conduit. **Neuroscience Letters**, v. 544, p. 125–130, 2013.

REN, G. et al. Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression Occurs via Concerted Action of Chemokines and Nitric Oxide. **Cell Stem Cell**, v. 7, n. 2(2), p.141–50, 2008.

RIBEIRO, J. et al. Evaluation of biodegradable electric conductive tube-guides and mesenchymal stem cells. **World journal of stem cells**, v. 7, n. 6, p. 956–75, 2015a.

RIBEIRO, T. B. et al. Neuroprotection and immunomodulation by xenografted human mesenchymal stem cells following spinal cord ventral root avulsion. **Scientific Reports**, v. 5, n. November 2014, p. 1–12, 2015b.

RODRIGUES HELL, R. C. et al. Local injection of BDNF producing mesenchymal stem cells increases neuronal survival and synaptic stability following ventral root

avulsion. **Neurobiology of Disease**, v. 33, n. 2, p. 290–300, 2009.

ROSADO, I. R. et al. Immunomodulatory and neuroprotective effect of cryopreserved allogeneic mesenchymal stem cells on spinal cord injury in rats. **Genetics and Molecular Research**, 2017.

ROTSCHENKER, S. Wallerian degeneration: The innate-immune response to traumatic nerve injury. **Journal of Neuroinflammation**, v. 30, n. 8, p.109, 2011.

SALTZMAN, E. B. et al. A Comparison Between Two Collagen Nerve Conduits and Nerve Autograft: A Rat Model of Motor Nerve Regeneration. **Journal of Hand Surgery**, v. 44(8), p. 700.e1-700.e9, 2019.

SANCHEZ, D. N. R. et al. Effects of Canine and Murine Mesenchymal Stromal Cell Transplantation on Peripheral Nerve Regeneration. **International Journal of Stem Cells**, p. 1–10, 30, 2017.

SCHEIB, J.; HÖKE, A. Advances in peripheral nerve regeneration. **Nature Reviews Neurology**, v. 9, n. 12, p. 668–676, 2013.

SONG, X. Y. et al. Knockout of p75NTR impairs re-myelination of injured sciatic nerve in mice. **Journal of Neurochemistry**, v. 96, n. 3, p. 833–842, 2006.

SPEJO, A. B. et al. Neuroprotection and immunomodulation following intraspinal axotomy of motoneurons by treatment with adult mesenchymal stem cells. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–18, 2018.

SPEJO, A. B.; OLIVEIRA, A. L. R. Synaptic rearrangement following axonal injury: Old and new players. **Neuropharmacology**, v. 96, n. PA, p. 113–123, 2015.

STOLL, G.; MÜLLER, H. W. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. **Brain pathology**, v. 9, n. 2, p. 313–25, 1999.

STRATTON, S. et al. Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering. **Bioactive Materials**, v. 1, n. 2, p. 93–108, 2016.

SULAIMAN, O. A. R.; GORDON, T. Role of Chronic Schwann Cell Denervation in Poor Functional Recovery After Nerve Injuries and Experimental Strategies To Combat It. **Neurosurgery**, v. 65, p. A105–A114, 2009.

SUN, M. et al. In vitro and in vivo testing of novel ultrathin PCL and PCL/PLA blend films as peripheral nerve conduit. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 93, n. 4, p. 1470–1481, 2010.

TAJDARAN, K. et al. Matrices, scaffolds, and carriers for protein and molecule delivery in peripheral nerve regeneration. **Experimental Neurology**, v. 319, p. 1–16, 2019.

TAKEMURA, Y. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor from Bone Marrow-Derived Cells Promotes Post-Injury Repair of Peripheral Nerve. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. 4–11, 2012.

TASKINEN, H. S. et al. Peripheral nerve injury induces endoneurial expression of IFN- γ , IL-10 and TNF- α mRNA. **Journal of Neuroimmunology**, v. 3, n. 102(1), p. 17–25, 2000.

TAYLOR, C. A. et al. The incidence of peripheral nerve injury in extremity trauma. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 87(5), p. 381-5, 2008.

TOFARIS, G. K. et al. Denervated Schwann cells attract macrophages by secretion of leukemia inhibitory factor (LIF) and monocyte chemoattractant protein-1 in a process regulated by interleukin-6 and LIF. **Journal of Neuroscience**, v. 1, n. 22, p.6696-703, 2002.

TOMITA, K. et al. Differentiated adipose-derived stem cells promote myelination and enhance functional recovery in a rat model of chronic denervation. **Journal of Neuroscience Research**, v. 90, n. 7, p. 1392–1402, 2012.

TYNER, T. R. et al. Effects of collagen nerve guide on neuroma formation and neuropathic pain in a rat model. v. 193, p. 6–11, 2007.

UCCELLI, A.; MORETTA, L.; PISTOIA, V. Mesenchymal stem cells in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 9, p. 726–736, set. 2008.

VALERO-CABRÉ, A.; NAVARRO, X. H reflex restitution and facilitation after different types of peripheral nerve injury and repair. **Brain Research**, v. 919, n. 2, p. 302–312, 2001.

VAN SOENS, I. et al. Magnetic stimulation of the radial nerve in dogs and cats with brachial plexus trauma: A report of 53 cases. **Veterinary Journal**, v. 182, n. 1, p. 108–113, 2009.

VAREJÃO, A S. et al. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. **Journal of neuroscience methods**, v. 108, n. 1, p. 1–9, 2001.

VIEIRA, N. M. et al. Isolation, Characterization, and Differentiation Potential of Canine Adipose-Derived Stem Cells. **Cell Transplantation**, v. 19, n. 3, p. 279–289, 1 mar. 2010.

VIGO, T. et al. IFN β enhances mesenchymal stromal (Stem) cells immunomodulatory function through STAT1-3 activation and mTOR-associated promotion of glucose metabolism. **Cell Death and Disease**, v. 10, n. 2, 2019.

VIJAYAVENKATARAMAN, S. et al. Electrohydrodynamic Jet 3D Printed Nerve Guide Conduits (NGCs) for peripheral Nerve Injury Repair. **Polymers**, v. 10, n. 7, p. 1–26, 2018.

VLEGGEERT-LANKAMP, C. L. A. M. et al. Pores in synthetic nerve conduits are beneficial to regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 80A, n. 4, p. 965–982, 15 mar. 2007.

WAITAYAWINYU, T. et al. A Comparison of Polyglycolic Acid Versus Type 1 Collagen Bioabsorbable Nerve Conduits in a Rat Model: An Alternative to Autografting. **Journal of Hand Surgery**, v. 32(10), p.1521-9, 2007.

WANG, A. et al. Placental Mesenchymal Stromal Cells Rescue Ambulation in Ovine Myelomeningocele. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 4, n. 6, p. 659–669, 2015.

WANG, G. et al. Preparation of cross-linked carboxymethyl chitosan for repairing

sciatic nerve injury in rats. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 1, p. 59–66, 2009a.

WANG, J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells promote cell proliferation and neurotrophic function of Schwann cells in vitro and in vivo. **Brain Research**, v. 1262, p. 7–15, 25 mar. 2009b.

WANG, S.; CAI, L. Polymers for fabricating nerve conduits. **International Journal of Polymer Science**, v. 2010, 2010.

WU, R. et al. Evaluation of artificial nerve conduit and autografts in peripheral nerve repair in the rat model of sciatic nerve injury. **Neurological Research**, v. 38, n. 5, p. 461–466, 2016.

XIAO, S. et al. IL-10 Gene-modified human amniotic mesenchymal stem cells augment regenerative wound healing by multiple synergistic effects. **Stem Cells International**, v. 2019, 2019.

YANNAS, I. V.; ZHANG, M.; SPILKER, M. H. Standardized criterion to analyze and directly compare various materials and models for peripheral nerve regeneration. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 18, n. 8, p. 943–966, 2007.

YAO, M. et al. Repair of rat sciatic nerve defects by using allogeneic bone marrow mononuclear cells combined with chitosan/silk fibroin scaffold. **Cell Transplantation**, v. 25, n. 5, p. 983–993, 2016.

YOUSEFI, F. et al. Novel approaches using mesenchymal stem cells for curing peripheral nerve injuries. **Life Sciences**, v. 221, p. 99–108, 2019.

YU, W. et al. Sciatic nerve regeneration in rats by a promising electrospun collagen/poly(ϵ -caprolactone) nerve conduit with tailored degradation rate. **BMC Neuroscience**, v. 12, n. 1, p. 68, 2011.

ZHANG, J. Y. et al. Endogenous BDNF is required for myelination and regeneration of injured sciatic nerve in rodents. **European Journal of Neuroscience**, 2000.

ZHANG, Y. et al. A nerve graft constructed with xenogeneic acellular nerve matrix and autologous adipose-derived mesenchymal stem cells. **Biomaterials**, v. 31, n. 20, p. 5312–24, jul. 2010.

ZHU, W. et al. Rapid continuous 3D printing of customizable peripheral nerve guidance conduits. **Materials Today**, v. 21, n. 9, p. 951–959, nov. 2018.