

REGENERAÇÃO DE NERVOS PERIFÉRICOS: TERAPIA CELULAR E FATORES NEUOTRÓFICOS

PERIPHERAL NERVE REGENERATION: CELL THERAPY AND NEUROTROPHIC FACTORS

Alessandra Deise Sebben¹, Martina Lichtenfels², Jefferson Luis Braga da Silva³

RESUMO

Traumatismos em nervos periféricos resultam na perda de função do órgão inervado e raramente apresentam recuperação sem a intervenção cirúrgica. Diversas técnicas cirúrgicas são passíveis de serem empregadas para o reparo nervoso. Dentre elas, ressalta-se o uso da técnica de tubulização, podendo ser acrescentados fatores com capacidade regenerativa na câmara. A terapia celular e engenharia de tecidos surgem como uma alternativa para estimular e auxiliar a regeneração de nervos periféricos. Portanto, o objetivo desta revisão é fornecer um levantamento e uma análise de estudos experimentais e clínicos, quanto aos resultados obtidos, que utilizam a terapia celular e engenharia de tecidos como ferramentas para otimizar o processo de regeneração. Os artigos utilizados são oriundos de bases de dados científicas LILACS e Medline, através de pesquisas realizadas no PubMed e SciELO. Artigos sobre o uso de células-tronco, células de Schwann, fatores de crescimento, colágeno, laminina e plasma rico em plaquetas no reparo de nervos periféricos foram sintetizados ao longo da revisão. Com base nos diversos estudos pode-se concluir que a utilização de células-tronco derivadas de diferentes fontes apresentam resultados promissores na regeneração nervosa, pois estas possuem capacidade de diferenciação neuronal, demonstrando, assim, resultados funcionais eficazes. O uso de tubos acrescidos de elementos bioativos com liberação controlada também otimiza o reparo nervoso, promovendo uma maior mielinização e crescimento axonal dos nervos periféricos. Outro tratamento promissor é o uso de plasma rico em plaquetas, que, além de liberar fatores de crescimento importantes no reparo nervoso, ainda serve como um carreador para fatores exógenos estimulando a proliferação de células específicas no reparo de nervo periférico.

Descritores - Sistema Nervoso Periférico/lesões; Medicina Regenerativa; Regeneração Nervosa

ABSTRACT

Peripheral nerve trauma results in functional loss in the innervated organ, and recovery without surgical intervention is rare. Many surgical techniques can be used for nerve repair. Among these, the tubulization technique can be highlighted: this allows regenerative factors to be introduced into the chamber. Cell therapy and tissue engineering have arisen as an alternative for stimulating and aiding peripheral nerve regeneration. Therefore, the aim of this review was to provide a survey and analysis on the results from experimental and clinical studies that used cell therapy and tissue engineering as tools for optimizing the regeneration process. The articles used came from the LILACS and MEDLINE scientific databases, through investigations in PubMed and SciELO. Articles on the use of stem cells, Schwann cells, growth factors, collagen, laminin and platelet-rich plasma for peripheral nerve repair were summarized over the course of the review. Based on these studies, it could be concluded that the use of stem cells derived from different sources presents promising results relating to nerve regeneration, because these cells have a capacity for neuronal differentiation, thus demonstrating effective functional results. The use of tubes containing bioactive elements with controlled release also optimizes the nerve repair, thus promoting greater myelination and axonal growth of peripheral nerves. Another promising treatment is the use of platelet-rich plasma, which not only releases growth factors that are important in nerve repair, but also serves as a carrier for exogenous factors, thereby stimulating the proliferation of specific cells for peripheral nerve repair.

Keywords - *Peripheral Nerve System/injuries; Regenerative Medicine; Nerve Regeneration*

1 – Bióloga, Doutoranda em Medicina e Ciências da Saúde (PUCRS) – Porto Alegre, RS, Brasil.

2 – Bióloga, Mestranda em Medicina e Ciências da Saúde (PUCRS) – Porto Alegre, RS, Brasil.

3 – Médico; Professor Titular da Faculdade de Medicina (PUCRS) – Porto Alegre, RS, Brasil.

Trabalho realizado no Laboratório de Habilidades Médicas e Pesquisa Cirúrgica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

Correspondência: Avenida Ipiranga, 6.690 / 64, Partenon – 90610-000 – Porto Alegre, RS. E-mail: adsebben@gmail.com

Trabalho recebido para publicação: 11/02/2011, aceito para publicação: 16/06/2011.

Os autores declaram inexistência de conflito de interesses na realização deste trabalho / *The authors declare that there was no conflict of interest in conducting this work*

**Este artigo está disponível online nas versões Português e Inglês nos sites: www.rbo.org.br e www.scielo.br/rbort
This article is available online in Portuguese and English at the websites: www.rbo.org.br and www.scielo.br/rbort**

INTRODUÇÃO

Traumatismos por transecção em nervos periféricos são extremamente comuns na prática clínica e raramente apresentam recuperação sem intervenção cirúrgica. Lesões com perda de substância nervosa são responsáveis por graves problemas ao paciente. Além de causar dor e morbidade estas injúrias normalmente geram sequelas permanentes, como déficit sensitivo e disfunção funcional. Essas lesões causam danos que diminuem de maneira substancial a qualidade de vida desses pacientes, incluindo a incapacitação física e a perda total ou parcial de suas atividades produtivas, o que origina importantes consequências econômicas e sociais⁽¹⁾. As técnicas atuais de reparo oferecem resultados aleatórios e frequentemente insatisfatórios. Frente a essas limitações, muitos pesquisadores buscam alternativas terapêuticas para aprimorar o reparo de lesões com transecção de nervos periféricos⁽²⁾.

O transplante autólogo de nervo periférico representa atualmente o padrão ouro de reparo quando há perda de substância que impossibilite a neurografia. Apresenta, porém, algumas limitações, como a necessidade de realização de dois procedimentos cirúrgicos em locais distintos, a consequente e maior morbidade e a escassez de sítios doadores de nervo, além do déficit sensitivo resultante na área da qual foi retirado^(2,3).

Nos casos em que a extensão da lesão impossibilita a simples reunião dos cotos, uma técnica de reparo disponível e vastamente empregada é a tubulização. Essa técnica, também chamada entubulação, é um procedimento cirúrgico em que os cotos nervosos seccionados são introduzidos e fixados dentro de uma prótese tubular, objetivando propiciar um ambiente favorável à regeneração. Proporciona, ainda, o direcionamento do crescimento nervoso das extremidades rompidas ou seccionadas^(2,4), protegendo as fibras nervosas do tecido cicatricial e evitando a formação de neuroma⁽⁵⁾. A tubulização apresenta outra característica interessante: ela pode ser otimizada com acréscimo de fatores regenerativos⁽⁶⁻⁸⁾.

Sabe-se que o reparo tecidual requer uma complexa interação entre células, matriz extracelular e fatores tróficos, sendo todos importantes elementos envolvidos na regeneração nervosa⁽⁹⁾. Consequentemente, a terapia celular e a engenharia de tecidos vêm recebendo grande atenção nas últimas décadas, e são amplamente utilizadas em diferentes áreas^(7,10-13).

Apesar da complexidade dos eventos moleculares e

celulares do reparo tecidual ainda não estar completamente esclarecida, os conhecimentos existentes sobre os mecanismos da cascata que induz a regeneração após a lesão de nervos periféricos são vastos e fornecem informações importantes para uma melhor concepção sobre o reparo nervoso. Portanto, o objetivo desta revisão é fornecer um levantamento e análise de estudos experimentais e clínicos quanto aos resultados obtidos a partir de técnicas de reparo de nervo periférico, que utilizam a terapia celular e engenharia de tecidos como ferramentas para otimizar o processo de regeneração. Os artigos utilizados são oriundos de bases de dados científicas LILACS, Medline e SciELO.

REVISÃO DE LITERATURA

Terapia celular e reparo de nervo periférico

O transplante de células é uma das estratégias da terapia celular e engenharia de tecidos que tem como objetivo a criação de um microambiente favorável para a regeneração tecidual. Células-tronco possuem características importantes que as diferenciam de outros tipos celulares, são células precursoras indiferenciadas que têm capacidade de autorrenovação e podem diferenciar-se em múltiplas linhagens⁽¹⁴⁾. Estão presentes em diversos tecidos e são responsáveis pela regeneração dos mesmos na ocorrência de injúrias ou lesões⁽¹⁵⁾. Medula óssea, tecido adiposo, sangue do cordão umbilical e sangue periférico são algumas fontes de células-tronco; porém, essas células podem ser tecido-específicas, ou seja, oriundas diretamente de tecidos especializados^(6,14,16-18). No reparo nervoso, dentre as células mais utilizadas estão as células mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo, assim como as próprias células de Schwann^(6,7,19-33) (Tabela 1).

Tabela 1 – Tipos de células utilizadas como terapia celular no reparo nervoso.

Célula	Modelo de estudo	Referência
Mesenquimal derivada da medula óssea	Clínico	7
Mesenquimal derivada da medula óssea	Experimental	6, 19, 20, 21, 22, 23, 24
Mesenquimal derivada do tecido adiposo	Experimental	25, 26
Células de Schwann	Experimental	27, 28, 29, 30, 31, 32, 33

Essas células podem ser aplicadas diretamente após separação por gradiente de densidade (Ficoll-Paque®) ou ser cultivadas e diferenciadas *in vitro* para posterior aplicação, como é o caso da diferenciação de células-tronco em células de Schwann. A seguir, serão descritos alguns dos tipos celulares mais utilizados em pesquisas sobre reparo nervoso.

Células de Schwann no reparo nervoso

As células mais comumente utilizadas na regeneração nervosa são as células de Schwann (CS) autólogas. Essas representam as células da glia no sistema nervoso periférico, sendo sua principal função o suporte aos axônios através da liberação de fatores de crescimento e isolamento do axônio através da formação da bainha de mielina⁽³⁴⁾. A adição de CS em tubos sintéticos auxilia a regeneração em defeitos de nervo, embora o reparo com enxerto autólogo, na maioria dos estudos, ainda apresente uma recuperação superior^(27,29,33,35-37). Além de sintetizarem fatores de crescimento, as SC também são capazes de produzir moléculas extracelulares, como laminina e colágeno tipo IV. A matriz extracelular pode servir como reservatório de fatores de crescimento que são secretados pelas CS⁽³⁸⁾.

Estudos experimentais baseados na utilização de SC como uma alternativa terapêutica para a recuperação de nervos com perda de substância comprovaram a eficácia destas células^(28,32,39). As SC desempenham um papel importante na manutenção, nutrição e no reparo de nervos periféricos. Embora ainda existam fatores limitantes no uso de SC, essas possuem resultados promissores na melhora tecidual, fisiológica e funcional em lesões causadas por traumas ou patologias em nervos periféricos.

Células mesenquimais da medula óssea e regeneração do nervo

Muitos pesquisadores têm desenvolvido estudos sobre células-tronco^(19,25,27,40). As células-tronco embrionárias, assim como as obtidas a partir de tecido cerebral adulto, são capazes de sofrer expansão e diferenciação neuronal *in vitro* e *in vivo*. No entanto, a inacessibilidade destas células limita seu uso clínico, o que estimulou a busca por células que sejam hábeis em diferenciar-se em linhagens neuronais^(28,41). Além disso, existe uma polêmica que envolve a pesquisa com utilização de células-tronco referente às fontes das quais elas são obtidas. Particularmente, o uso de células-tronco embrionárias, apesar de estar legalmente regulamentado no Brasil, que permite a pesquisa e manipulação dessas células obtidas

através de “embriões inviáveis”, ainda permanece envolvido em discussões éticas e políticas^(29,30,42,43).

Uma fonte alternativa e viável de células-tronco mesenquimais é a medula óssea. Células adultas derivadas da medula óssea são caracterizadas como multipotentes, pois são capazes de se diferenciar em linhagens celulares de origem mesodermal^(44,45). Diversas pesquisas sobre transplante de células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (CTMO) têm relatado que essas células também apresentam habilidade de diferenciação neuronal *in vitro*, o que torna possível a sua utilização no reparo de nervo periférico⁽⁴⁶⁻⁵²⁾. Adicionalmente, Montzka *et al*⁽⁵³⁾ demonstraram a capacidade de CTMO humanas expressar diferentes marcadores neuronais e de células da glia.

Estudos experimentais em roedores^(20,21,23), coelhos^(22,54) e primatas⁽⁵⁵⁾ comprovam a eficiência dessas células, apresentando desfechos funcionais positivos no reparo de nervo periférico. A combinação de células mesenquimais da medula óssea com tubo bioabsorvível aumenta a regeneração nervosa e a recuperação funcional de nervo ciático em camundongos⁽⁵⁶⁾. As CTMO podem influenciar positivamente a regeneração de nervos periféricos não somente através da liberação direta de fatores neurotróficos, como também pela modulação indireta do comportamento das CS^(24,46).

Há evidências clínicas que apontam as CTMO como um tratamento eficaz no reparo de nervo periférico. Ao comparar a técnica de tubulização com e sem adição de células mononucleares da medula óssea (esse grupo de células contém uma fração de células-tronco) em 44 pacientes com danos no nervo mediano ou ulnar, constatou-se que lesões tratadas com essas células apresentaram melhores resultados no processo de regeneração quando comparadas à tubulização convencional⁽⁷⁾.

Contudo, as CTMO apresentam algumas limitações. Além da obtenção dessas células ser realizada com aplicação de anestesia peridural ou geral, pois a coleta ocorre através de um procedimento muito doloroso, a quantidade adquirida de células muitas vezes não alcança o número necessário⁽⁵⁷⁾.

Células mesenquimais derivadas do tecido adiposo e regeneração nervosa

As células-tronco mesenquimais não estão presentes somente na medula óssea, mas também em outros tecidos incluindo o tecido adiposo⁽¹⁸⁾. São denominadas pela maioria dos autores como células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSC, do inglês *Adipose-Derived Stem Cell*).

Existe grande semelhança entre as ADSC e as CTMO, pois ambas apresentam perfil imunofenotípico similar, bem como a capacidade de se diferenciar em linhagens osteogênica, condrogênica, miogênica e adipogênica^(58,59). A vantagem no uso de ADSC é a sua ampla disponibilidade, pois a gordura subcutânea humana é abundante, podendo ser coletada facilmente através do procedimento de lipoaspiração, além de sua frequência no tecido adiposo ser bem mais elevada do que as células mesenquimais na medula óssea⁽⁶⁰⁾.

A habilidade das células mesenquimais provenientes do tecido adiposo de se diferenciar em células com características neuronais foi comprovada *in vitro*. Kingham *et al*⁽⁶¹⁾ relataram que as ADSC são capazes de se diferenciar em células semelhantes à genuína CS, quando cultivadas junto a uma combinação de fatores tróficos gliais.

Células derivadas de tecido adiposo de murinos e humanos, após indução neuronal, apresentaram morfologia típica de células nervosas, sendo essas positivas para expressão imunocitoquímica de GFAP, nestina e proteína nuclear específica de neurônios (Neu-N). O pré-tratamento com fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento de fibroblastos básico (FGF) aumenta a diferenciação neuronal das células-tronco humanas derivadas de tecido adiposo, tendo a utilização das mesmas uma ampla implicação biológica e clínica⁽⁴¹⁾. Entretanto, a célula-tronco mesenquimal derivada do tecido adiposo deve possuir capacidade de produzir bainha de mielina, a principal função das CS. Esta característica foi confirmada em estudos *in vitro*, tornando-se, assim, mais uma alternativa para o tratamento de injúrias em nervos periféricos⁽⁵⁷⁾.

As células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo apresentam resultados semelhantes às derivadas da medula óssea *in vivo*^(25,26). Entretanto, devido à facilidade na sua coleta e abundante quantidade de células disponíveis em depósitos subcutâneos, as ADSC são apontadas como uma melhor alternativa para a aplicação clínica⁽²⁵⁾.

Fatores de crescimento no reparo nervoso

Na complexidade da regeneração nervosa, está envolvida uma gama de elementos que interagem entre si, todos fundamentais ao processo; dentre eles, os fatores de crescimento (FC) despertam grande interesse da comunidade científica⁽⁶²⁾, por sua atuação como importantes moduladores celulares⁽⁶²⁻⁷⁸⁾ (Tabela 2).

Os nervos periféricos degenerados são uma fonte

Tabela 2 – Principais fatores neurotróficos usados no reparo de nervo periférico.

Fator de crescimento	Principal alvo	Referência
NGF	Neurônios sensitivos e axônios pequenos	63, 64, 65
BDNF	Neurônios sensitivos e grandes axônios	66, 67, 68
NT-3	Neurônios sensitivos e motores	69
NT-4/5	Neurônios motores	62
GDNF	Neurônios motores	70
CNTF	Nervo ciático	71
IGF	Células inflamatórias (anti-inflamatórias); neurônios sensitivos e motores	72, 73, 74, 75
VEGF	Células do endotélio vascular	76, 77, 78

importante destes fatores, assim como as CS. Essas proteínas são basicamente um conjunto de três famílias de moléculas e seus receptores, responsáveis por manter o crescimento e a sobrevivência dos axônios e neurônios motores e sensitivos após danos teciduais⁽⁶²⁾.

A presença local dos FC é importante no controle da sobrevivência, migração, proliferação e diferenciação de vários tipos celulares que estão engajados no reparo de nervos^(9,62). Por esses motivos, a utilização de terapias baseadas em FC tem aumentado nas últimas décadas. Os fatores de crescimento devem ser administrados localmente para atingir um efeito terapêutico mais adequado e com poucas reações adversas. Portanto, a entrega dos fatores de crescimento para regeneração de nervos pode ser idealmente combinada com condutos nervosos⁽³⁴⁾.

Dentre os fatores neurotróficos, o fator de crescimento neural (do inglês *nerve growth factor* – NGF) é o fator mais pesquisado, devido à sua ação na proliferação e diferenciação de neurônios⁽⁶⁴⁾ e por auxiliar o reparo e a recuperação funcional de nervos injuriados⁽⁶³⁾. Quando combinado com biomateriais e com liberação controlada, seu efeito pode ser potencializado⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾. Em estudos experimentais confirmou-se a capacidade do NGF de promover a recuperação funcional após lesão^(65,81).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês *brain-derived neurotrophic factor* – BDNF) endógeno demonstra um importante papel na indução da resposta do corpo celular em neurônios injuriados de ratos. Quando expostas a mitógenos como BDNF, as células-tronco se diferenciam em linhagens neuronais *in vitro*⁽⁶⁸⁾.

O fator neurotrófico derivado de linhagem de célula glial (do inglês *glial cell line-derived neurotrophic factor* – GDNF) é considerado o fator mais protetor

para neurônios motores⁽⁷⁰⁾, sendo fundamental na sua formação, assim como de neurônios sensitivos durante o processo de regeneração⁽⁸²⁾. O GDNF tem sua expressão elevada em modelos experimentais de neuropatias motoras em ratos, várias neuropatias humanas e em nervos humanos traumatizados⁽⁸²⁾. Em modelo de lesão de nervo periférico em ratos, demonstrou-se que a combinação de condutos nervosos compostos por quitosana, GDNF e laminina foi significativamente mais eficiente durante os estágios iniciais do reparo nervoso, promovendo maior mielinização e crescimento axonal em seis semanas após a transecção do nervo dos animais⁽⁸³⁾.

O fator neurotrófico ciliar (do inglês *ciliar neurotrophic factor* – CNTF) auxilia na diferenciação e na sobrevivência de uma variedade de neurônios, e os níveis de expressão de mRNA de CNTF decrescem significativamente e continuam baixos por longo período após transecção de nervo periférico⁽⁷¹⁾.

De modo semelhante, o fator de crescimento similar à insulina (do inglês *insulin-like growth factor* – IGF) também auxilia na regeneração de nervos. O IGF-1 está presente em vários estágios do desenvolvimento do sistema nervoso periférico, exercendo uma grande variedade de funções, dentre elas a promoção da regeneração dos axônios sensitivos e motores⁽⁷²⁻⁷⁵⁾. Evidências sugerem que níveis elevados de IGF em músculo denervado podem estimular a regeneração com brotamento do nervo⁽⁸⁴⁾.

O fator de crescimento endotelial vascular (do inglês *vascular endothelial growth factor* – VEGF), além de atuar essencialmente no tecido vascular, também auxilia a regeneração de nervos, devido à estreita relação existente entre as fibras nervosas e os vasos sanguíneos durante esse processo. A adição de VEGF aumenta significativamente a infiltração de vasos sanguíneos em câmaras de condução nervosa, estando relacionada ao aumento da regeneração axonal e migração de SC^(76,77). Além disso, o VEGF atua como neuroprotetor em neurônios *in vitro* após lesão isquêmica⁽⁷⁸⁾. Em trabalho experimental o uso de VEGF demonstrou efeito sobre o suprimento vascular, com um aumento significativo da regeneração axonal e de SC, estimulando a regeneração nervosa⁽⁸⁵⁾.

Colágeno e laminina como carreadores

Como componentes da matriz extracelular estão o colágeno e a laminina, fundamentais para a orientação e o crescimento axonal durante o processo de regeneração nervosa. O colágeno e a laminina estão envolvidos no processo de regeneração através da formação de um substrato para a migração de células não neuronais. O preenchimento de tubos de silicone com esses componentes apresenta aumento na taxa de regeneração⁽⁸⁶⁾ e

na conexão de defeitos extensos⁽⁸⁷⁾. Esse efeito, entretanto, depende de alguns fatores como a concentração e a permeabilidade do tubo^(87,88).

Atualmente, diferentes géis contendo colágeno ou laminina (Matrigel[®]) vêm sendo utilizados como suporte para células e fatores de crescimento^(27,35,37). O colágeno, como o maior componente da matriz extracelular, é utilizado em diversas próteses cirúrgicas. Estudo em modelo animal demonstrou a eficácia de uma biomatriz composta por colágeno (Tissudura[™]) quando utilizada na regeneração nervosa⁽⁸⁹⁾.

Assim como o colágeno, a laminina também desempenha um papel importante no crescimento axonal *in vivo*. Pesquisas incluem esse componente da matriz extracelular em modelos animais para reparar nervos ciáticos injuriados e obter melhora em algumas áreas de regeneração axonal. A aplicação de tubos compostos por quitosana combinados com laminina demonstra que o tubo otimiza o processo de regeneração nervosa durante as fases iniciais do reparo⁽⁸³⁾.

Utilização de plasma rico em plaquetas no reparo de nervo periférico

O plasma rico em plaquetas (PRP), derivado de sangue autólogo, é definido como um volume de plasma com concentração plaquetária em torno de cinco vezes acima dos níveis fisiológicos⁽⁹⁰⁾. As plaquetas que constituem o PRP são capazes de liberar diversos fatores de crescimento fundamentais para a cicatrização de lesões, como os três isômeros de fator de crescimento plaquetário (PDGF $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ e $\alpha\beta$), VEGF, fator de crescimento transformador (TGF- β 1 β 2) e fator de crescimento epitelial (EGF)^(91,92). As plaquetas também são responsáveis pela síntese e armazenamento de BDNF⁽⁹³⁾.

O PRP é há tempo utilizado por áreas como cirurgia oral e bucomaxilofacial⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾, e vem sendo de grande interesse na cirurgia plástica^(97,98) e ortopédica^(99,100). Em estudos experimentais, o PRP foi utilizado em lesões de nervos periféricos, promovendo a remielinização em nervo facial⁽⁹¹⁾ e nervo ciático de ratos⁽⁸⁾.

A aplicação de PRP aumenta o número de fibras nervosas após lesões de nervos periféricos, podendo exercer um efeito neurotrófico, estimulando a proliferação das células de Schwann e a mielinização, componentes importantes durante o reparo de nervo periférico^(6,101).

Os dados na literatura sobre o efeito do PRP na regeneração de nervo periférico são escassos, o que estimula a busca por informações mais precisas sobre sua atuação. Portanto, este tratamento deve receber atenção e ser aprofundado, pois tem potencial para se tornar mais uma alternativa segura e de baixo custo associado para

o tratamento das mais diversas lesões e neuropatias em nervos periféricos.

CONCLUSÃO

O conceito de um tratamento ideal para auxiliar o reparo de nervos baseia-se na confecção de tubos sintéticos, preferencialmente bioabsorvíveis, com o revestimento de componentes da matriz extracelular e que sejam adequados para liberação controlada de um ou mais fatores neurotróficos, elementos bioativos ou células. A combinação de dois ou mais fatores de crescimento, provavelmente, exerce um efeito sinérgico na regeneração do nervo, especialmente quando pertencem a famílias diversas e agem por mecanismos distintos. Apesar do vasto conhecimento já adquirido sobre

essas proteínas na melhora da regeneração nervosa, mais estudos experimentais são necessários antes de sua utilização na prática clínica.

O uso de células, sejam as próprias células de Schwann ou as células-tronco obtidas de fontes diversificadas, demonstram grandes benefícios no reparo de nervos periféricos, com grande potencial para se tornar uma das alternativas mais promissoras na clínica.

Outra técnica interessante e ainda pouco explorada é o uso de PRP, que libera fatores de crescimento autólogos e serve como carreador para outros fatores exógenos na regeneração nervosa.

Considerando as evidências encontradas, observou-se que um tratamento promissor baseia-se na combinação de elementos biológicos e sintéticos para que a regeneração seja otimizada e proporcione melhores resultados.

REFERÊNCIAS

- Noble J, Munro CA, Prasad VS, Midha R. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1998;45(1):116-22.
- Oliveira A, Pierucci A, Pereira K. Peripheral nerve regeneration through the nerve tubulization technique. *Braz J Morphol Sci*. 2004;21(4):225-31.
- Ichihara S, Inada Y, Nakamura T. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury*. 2008;39(Suppl 4):29-39.
- Torres M, Graça D, Farias E. Reparação microcirúrgicas de nervo periférico por meio de sutura, cola de fibrina ou bainha de Biofill® em ratos Wistar. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2003;55(5):557-61.
- Pierucci A, Faria AM, Pimentel ER, Júnior ARS, Oliveira ALR. Effects of aggre-can on schwann cell migration in vitro and nerve regeneration in vivo. *Braz J Morphol Sci* 2004;21(3):125-30.
- Braga Silva J, Gehlen D, Javier ARR, Menta C, Atkinson EA, Machado DC, et al. Efeitos das células-tronco adultas de medula óssea e do plasma rico em plaquetas na regeneração e recuperação funcional nervosa em um modelo de defeito agudo em nervo periférico em rato. *Acta Ortop Bras*. 2006;14(5):273-5.
- Braga-Silva J, Gehlen D, Padoin AV, Machado DC, Garicochea B, Costa da Costa J. Can local supply of bone marrow mononuclear cells improve the outcome from late tubular repair of human median and ulnar nerves? *J Hand Surg Eur Vol*. 2008;33(4):488-93.
- Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*. 2008;24(3):159-67.
- Gordon T, Fu SY. Long-term response to nerve injury. *Adv Neurol*. 1997;72:185-99.
- Curran JM, Tang Z, Hunt JA. PLGA doping of PCL affects the plastic potential of human mesenchymal stem cells, both in the presence and absence of biological stimuli. *J Biomed Mater Res A*. 2009;89(1):1-12.
- Palpant NJ, Metzger JM. Aesthetic cardiology: adipose-derived stem cells for myocardial repair. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010;5(2):145-52.
- Wakitani S, Okabe T, Horibe S, Mitsuoka T, Saito M, Koyama T, et al. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. *J Tissue Eng Regen Med*. 2011;5(2):146-50.
- Weir MD, Xu HH. Human bone marrow stem cell-encapsulating calcium phosphate scaffolds for bone repair. *Acta Biomater*. 2010;6(10):4118-26.
- Lemischka IR. Stem cell biology: a view toward the future. *Ann NY Acad Sci*. 2005;1044:132-8.
- Fodor WL. Tissue engineering and cell based therapies, from the bench to the clinic: the potential to replace, repair and regenerate. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:102.
- Kallur T, Farr TD, Bohm-Sturm P, Kokaia Z, Hoehn M. Spatio-temporal dynamics, differentiation and viability of human neural stem cells after implantation into neonatal rat brain. *Eur J Neurosci*. 2011;34(3):382-93.
- Kuznetsov SA, Mankani MH, Gronthos S, Satomura K, Bianco P, Robey PG. Circulating skeletal stem cells. *J Cell Biol*. 2001;153(5):1133-40.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-28.
- Mimura T, Dezawa M, Kanno H, Sawada H, Yamamoto I. Peripheral nerve regeneration by transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells in adult rats. *J Neurosurg*. 2004;101(5):806-12.
- Chen X, Wang XD, Chen G, Lin WW, Yao J, Gu XS. Study of in vivo differentiation of rat bone marrow stromal cells into schwann cell-like cells. *Microsurgery*. 2006;26(2):111-5.
- Yang Y, Yuan X, Ding F, Yao D, Gu Y, Liu J, et al. Repair of rat sciatic nerve gap by a silk fibroin-based scaffold added with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(17-18):2231-44.
- Colomé LM, Gomes C, Crosignani N, Paz AH, Lugo AA, Guimarães KM, et al. Utilização de células-tronco autólogas de medula óssea na regeneração do nervo tibial de coelhos mediante técnica de tubulização com prótese de silicone. *Ciência Rural*. 2008;38(92529-2534):2529-34.
- Goel RK, Suri V, Suri A, Sarkar C, Mohanty S, Sharma MC, et al. Effect of bone marrow-derived mononuclear cells on nerve regeneration in the transection model of the rat sciatic nerve. *J Clin Neurosci*. 2009;16(9):1211-7.
- Wang J, Ding F, Gu Y, Liu J, Gu X. Bone marrow mesenchymal stem cells promote cell proliferation and neurotrophic function of Schwann cells in vitro and in vivo. *Brain Res*. 2009;1262:7-15.
- di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63(9):1544-52.
- Zhang Y, Luo H, Zhang Z, Lu Y, Huang X, Yang L, et al. A nerve graft constructed with xenogeneic acellular nerve matrix and autologous adipose-derived mesenchymal stem cells. *Biomaterials*. 2010;31(20):5312-24.
- Rodríguez FJ, Verdu E, Ceballos D, Navarro X. Nerve guides seeded with autologous schwann cells improve nerve regeneration. *Exp Neurol*. 2000;161(2):571-84.
- Zhang F, Blain B, Beck J, Zhang J, Chen Z, Chen ZW, et al. Autogenous venous graft with one-stage prepared Schwann cells as a conduit for repair of long segmental nerve defects. *J Reconstr Microsurg*. 2002;18(4):295-300.
- Evans GR, Brandt K, Katz S, Chauvin P, Otto L, Bogle M, et al. Bioactive poly(L-lactic acid) conduits seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*. 2002;23(3):841-8.
- Galla TJ, Vedecnik SV, Halbgewachs J, Steinmann S, Friedrich C, Stark GB. Fibrin/Schwann cell matrix in poly-epsilon-caprolactone conduits enhances guided nerve regeneration. *Int J Artif Organs*. 2004;27(2):127-36.
- Koshimune M, Takamatsu K, Nakatsuka H, Inui K, Yamano Y, Ikada Y. Creating bioabsorbable Schwann cell coated conduits through tissue engineering. *Biomed Mater Eng*. 2003;13(3):223-9.
- Nilsson A, Dahlin L, Lundborg G, Kanje M. Graft repair of a peripheral nerve without the sacrifice of a healthy donor nerve by the use of acutely dissociated autologous Schwann cells. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2005;39(1):1-6.
- Sinis N, Schaller HE, Becker ST, Schlosshauer B, Doser M, Roesner H, et al. Long nerve gaps limit the regenerative potential of bioartificial nerve conduits filled with Schwann cells. *Restor Neurol Neurosci*. 2007;25(2):131-41.
- Pfister LA, Papaloizos M, Merkle HP, Gander B. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. *J Peripher Nerv Syst*. 2007;12(2):65-82.
- Guenard V, Kleitman N, Morrissey TK, Bunge RP, Aebischer P. Syngeneic Schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci*. 1992;12(9):3310-20.
- Kim DH, Connolly SE, Kline DG, Voorhies RM, Smith A, Powell M, et al. Labeled Schwann cell transplants versus sural nerve grafts in nerve repair. *J Neurosurg*. 1994;80(2):254-60.
- Sinis N, Schaller HE, Schulte-Eversum C, Schlosshauer B, Doser M, Dietz K, et al. Nerve regeneration across a 2-cm gap in the rat median nerve using a resorbable nerve conduit filled with Schwann cells. *J Neurosurg*. 2005;103(6):1067-76.

38. Hoke A. Mechanisms of Disease: what factors limit the success of peripheral nerve regeneration in humans? *Nat Clin Pract Neurol*. 2006;2(8):448-54.
39. Pereira Lopes FR, Frattini F, Marques SA, Almeida FM, de Moura Campos LC, Langone F, et al. Transplantation of bone-marrow-derived cells into a nerve guide resulted in transdifferentiation into Schwann cells and effective regeneration of transected mouse sciatic nerve. *Micron*. 2010;41(7):783-90.
40. Walsh S, Midha R. Practical considerations concerning the use of stem cells for peripheral nerve repair. *Neurosurg Focus*. 2009;26(2):E2.
41. Safford KM, Hicok KC, Safford SD, Halvorsen YD, Wilkison WO, Gimble JM, et al. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;294(2):371-9.
42. Diniz D, Avelino D. International perspective on embryonic stem cell research. *Rev Saude Publica*. 2009;43(3):541-7.
43. Lo B, Parham L. Ethical issues in stem cell research. *Endocr Rev*. 2009;30(3):204-13.
44. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143-7.
45. Abdallah BM, Kasseem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther*. 2008;15(2):109-16.
46. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*. 2000;61(4):364-70.
47. Dezawa M, Takahashi I, Esaki M, Takano M, Sawada H. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of in vitro differentiated bone-marrow stromal cells. *Eur J Neurosci*. 2001;14(11):1771-6.
48. Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, Itokazu Y, et al. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*. 2004;113(12):1701-10.
49. Tohill M, Mantovani C, Wiberg M, Terenghi G. Rat bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration. *Neurosci Lett*. 2004;362(3):200-3.
50. Dezawa M, Hoshino M, Nabeshima Y, Ide C. Marrow stromal cells: implications in health and disease in the nervous system. *Curr Mol Med*. 2005;5(7):723-32.
51. Keilhoff G, Gohl A, Langnase K, Fansa H, Wolf G. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells into Schwann cell-like myelinating cells. *Eur J Cell Biol*. 2006;85(1):11-24.
52. Keilhoff G, Gohl A, Stang F, Wolf G, Fansa H. Peripheral nerve tissue engineering: autologous Schwann cells vs. transdifferentiated mesenchymal stem cells. *Tissue Eng*. 2006;12(6):1451-65.
53. Montzka K, Lassonczyk N, Tschoke B, Neuss S, Fuhrmann T, Franzen R, et al. Neural differentiation potential of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells: misleading marker gene expression. *BMC Neurosci*. 2009;10:16.
54. Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, Huh JY, Lee SH, Jung JH. Transplantation of cultured bone marrow stromal cells to improve peripheral nerve regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(5):537-42.
55. Wang D, Liu XL, Zhu JK, Jiang L, Hu J, Zhang Y, et al. Bridging small-gap peripheral nerve defects using acellular nerve allograft implanted with autologous bone marrow stromal cells in primates. *Brain Res*. 2008;1188:44-53.
56. Oliveira JT, Almeida FM, Biancalana A, Baptista AF, Tomaz MA, Melo PA, 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*. 2010;170(4):1295-303.
57. Xu Y, Liu L, Li Y, Zhou C, Xiong F, Liu Z, et al. Myelin-forming ability of Schwann cell-like cells induced from rat adipose-derived stem cells in vitro. *Brain Res*. 2008;1239:49-55.
58. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-95.
59. Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. *Cell Tissue Res*. 2007;327(3):449-62.
60. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res*. 2007;100(9):1249-60.
61. Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D, Armstrong SJ, Wiberg M, Terenghi G. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp Neurol*. 2007;207(2):267-74.
62. Boyd JG, Gordon T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *Mol Neurobiol*. 2003;27(3):277-324.
63. Apfel SC, Kessler JA, Adornato BT, Litchy WJ, Sanders C, Rask CA. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. NGF Study Group. *Neurology*. 1998;51(3):695-702.
64. Petruska JC, Mendell LM. The many functions of nerve growth factor: multiple actions on nociceptors. *Neurosci Lett*. 2004;361(1-3):168-71.
65. Sun W, Sun C, Lin H, Zhao H, Wang J, Ma H, et al. The effect of collagen-binding NGF-beta on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. *Biomaterials*. 2009;30(27):4649-56.
66. Takaki M, Nakayama S, Misawa H, Nakagawa T, Kuniyasu H. In vitro formation of enteric neural network structure in a gut-like organ differentiated from mouse embryonic stem cells. *Stem Cells*. 2006;24(6):1414-22.
67. Geremia NM, Pettersson LM, Hasmatali JC, Hryciw T, Danielsen N, Schreyer DJ, et al. Endogenous BDNF regulates induction of intrinsic neuronal growth programs in injured sensory neurons. *Exp Neurol*. 2010;223(1):128-42.
68. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedford T, Willing A, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol*. 2000;164(2):247-56.
69. Schecterson LC, Bothwell M. Novel roles for neurotrophins are suggested by BDNF and NT-3 mRNA expression in developing neurons. *Neuron*. 1992;9(3):449-63.
70. Henderson CE, Phillips HS, Pollock RA, Davies AM, Lemeulle C, Armanini M, et al. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. *Science*. 1994;266(5187):1062-4.
71. Ito Y, Yamamoto M, Li M, Doyu M, Tanaka F, Mutch T, et al. Differential temporal expression of mRNAs for ciliary neurotrophic factor (CNTF), leukemia inhibitory factor (LIF), interleukin-6 (IL-6), and their receptors (CNTFR alpha, LIFR beta, IL-6R alpha and gp130) in injured peripheral nerves. *Brain Res*. 1998;793:321-7.
72. Nakae J, Kido Y, Accili D. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-I receptors. *Endocr Rev*. 2001;22(6):818-35.
73. Apel PJ, Ma J, Callahan M, et al. Effect of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during aging: an experimental study in rats. *Muscle Nerve*. 2010;41:335-41.
74. Yakar S, Wu Y, Setser J, Rosen CJ. The role of circulating IGF-I: lessons from human and animal models. *Endocrine*. 2002;19(3):239-48.
75. Rosenzweig SA. What's new in the IGF-binding proteins? *Growth Horm IGF Res*. 2004;14(5):329-36.
76. Terenghi G. Peripheral nerve injury and regeneration. *Histol Histopathol*. 1995;10(3):709-18.
77. Hobson MI, Green CJ, Terenghi G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat*. 2000;197(Pt 4):591-605.
78. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(18):10242-7.
79. Xu XY, Yu H, Gao SJ, Mao HQ, Leong KW, Wang S. Polyphosphoester microspheres for sustained release of biologically active nerve growth factor. *Biomaterials*. 2002;23(17):3765-72.
80. Xu H, Yan Y, Li S. PDLLA/chondroitin sulfate/chitosan/NGF conduits for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*. 2011;32(20):4506-16.
81. Lee AC, Yu VM, Lowe JB, 3rd, Brenner MJ, Hunter DA, Mackinnon SE, et al. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. *Exp Neurol*. 2003;184(1):295-303.
82. Hoke A, Ho T, Crawford TO, LeBel C, Hilt D, Griffin JW. Glial cell line-derived neurotrophic factor alters axon schwann cell units and promotes myelination in unmyelinated nerve fibers. *J Neurosci*. 2003;23(2):561-7.
83. Patel M, Mao L, Wu B, VandeVord P. GDNF blended chitosan nerve guides: an in vivo study. *J Biomed Mater Res A*. 2009;90(1):154-65.
84. Caroni P, Grandes P. Nerve sprouting in innervated adult skeletal muscle induced by exposure to elevated levels of insulin-like growth factors. *J Cell Biol*. 1990;110(4):1307-17.
85. Hobson MI. Increased vascularisation enhances axonal regeneration within an acellular nerve conduit. *Ann R Coll Surg Engl*. 2002;84(1):47-53.
86. Madison RD, da Silva C, Dikkes P, Sidman RL, Chiu TH. Peripheral nerve regeneration with entubulation repair: comparison of biodegradable nerve guides versus polyethylene tubes and the effects of a laminin-containing gel. *Exp Neurol*. 1987;95(2):378-90.
87. Madison RD, Da Silva CF, Dikkes P. Entubulation repair with protein additives increases the maximum nerve gap distance successfully bridged with tubular prostheses. *Brain Res*. 1988;3;447(2):325-34.
88. Verdu E, Labrador RO, Rodriguez FJ, Ceballos D, Fores J, Navarro X. Alignment of collagen and laminin-containing gels improve nerve regeneration within silicone tubes. *Restor Neurol Neurosci*. 2002;20(5):169-79.
89. Cemil B, Ture D, Cevirgen B, Kaymaz F, Kaymaz M. Comparison of collagen biomatrix and omentum effectiveness on peripheral nerve regeneration. *Neurosurg Rev*. 2009;32(3):355-62.
90. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.
91. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope*. 2007;117(1):157-65.
92. Thorwarth M, Wehrhan F, Schultze-Mosgau S, Wilfang J, Schlegel KA. PRP modulates expression of bone matrix proteins in vivo without long-term effects on bone formation. *Bone*. 2006;38(1):30-40.
93. Yamamoto H, Gurney ME. Human platelets contain brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci*. 1990;10(11):3469-78.
94. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol Res*. 2002;37(4):300-6.
95. Mazon Z, Peleg M, Garg AK, Luboshitz J. Platelet-rich plasma for bone graft enhancement in sinus floor augmentation with simultaneous implant placement: patient series study. *Implant Dent*. 2004;13(1):65-72.
96. Plachokova AS, van den Dolder J, van den Beucken JJ, Jansen JA. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009;38(8):861-9.
97. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001;107(1):229-37.
98. Uebel CO, da Silva JB, Cantarelli D, Martins P. The role of platelet plasma growth factors in male pattern baldness surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(6):1458-66.
99. Kon E, Filardo G, Delcogliano M, Presti ML, Russo A, Bondi A, et al. Platelet-rich plasma: new clinical application: a pilot study for treatment of jumper's knee. *Injury*. 2009;40(6):598-603.
100. Nin JR, Gasque GM, Azcarate AV, Beola JD, Gonzalez MH. Has platelet-rich plasma any role in anterior cruciate ligament allograft healing? *Arthroscopy*. 2009;25(11):1206-13.
101. Elgazzar RF, Mutabagani MA, Abdelaal SE, Sadakah AA. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2008;37(8):748-55.