



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIA VITÓRIA DA SILVA XAVIER

**ANÁLISE DO PERFIL INFLAMATÓRIO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR EM
RATOS: EFEITOS DE MICROENXERTOS CONTENDO CÉLULAS-TRONCO
MESENQUIMAIS ASSOCIADAS AO EXERCÍCIO FÍSICO**

RECIFE
2025

MARIA VITÓRIA DA SILVA XAVIER

**ANÁLISE DO PERFIL INFLAMATÓRIO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR EM
RATOS: EFEITOS DE MICROENXERTOS CONTENDO CÉLULAS-TRONCO
MESENQUIMAIS ASSOCIADAS AO EXERCÍCIO FÍSICO**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Mariza Brandão Palma

Co-orientador: Anísio Francisco Soares

RECIFE

2025

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecária Suely Manzi – CRB/4 - 809

X3a Xavier, Maria Vitória da Silva
Análise do perfil inflamatório na regeneração muscular em ratos: efeitos de microenxertos contendo células-tronco mesenquimais associadas ao exercício físico / Maria Vitória da Silva Xavier. – 2025. 47 f.: il.

Orientadora: Mariza Brandão Palma.
Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Recife, BR-PE, 2025.
Inclui bibliografia e apêndice(s).

1. Biociências – Estudo e ensino 2. Fibrose 3. Músculo esquelético 4. Necrose 5. Células mortas 6. Células-tronco 7. Regeneração 8. Terapia celular I. Palma, Mariza Brandão, orient.
II. Título

CDD 574

Maria Vitória da Silva Xavier

**Análise do Perfil Inflamatório Na Regeneração Muscular em Ratos: Efeitos de
Microenxertos Contendo Células-Tronco Mesenquimais Associadas ao
Exercício Físico**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Mariza Brandão Palma (UFRPE)

Dr^a. Elayne Cristine Soares da Silva (UFRPE)

M^a. Aurea Letícia Gomes da Silva (UFPE)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada disso seria possível. Toda a minha trajetória foi um milagre e reconhecimento que foi pela Sua graça que pessoas abençoadas foram colocadas em meu caminho. A Ele, toda honra e glória.

Expresso minha sincera gratidão à Universidade Federal Rural de Pernambuco por proporcionar um ambiente único para o meu desenvolvimento acadêmico. Agradeço a todos os professores que contribuíram para essa caminhada, em especial ao Prof. Dr. Mauro de Melo Júnior, tutor do PET Biologia, cuja orientação e apoio constantes foram fundamentais para mim e para todos os PETianos. O PET Biologia esteve presente desde o início da minha jornada acadêmica até o seu encerramento. Sou profundamente grata a Deus pela existência desse grupo e pelo apoio financeiro que me foi concedido. Todas as amizades e experiências vividas nesse contexto permanecerão comigo por toda a vida.

Sou também imensamente grata ao coordenador do Laboratório de Fisiologia e Cirurgia Experimental, Prof. Dr. Anísio Soares, por me acolher em seu laboratório, onde pude me encontrar e mergulhar mais profundamente na pesquisa científica. À minha orientadora, Prof^a Dr^a Mariza Brandão Palma, dedico minha eterna gratidão. Seu olhar atento, sua mente criativa e sua orientação precisa foram indispensáveis para que eu pudesse iniciar e concluir este trabalho. Ademais, agradeço a todos os membros que trabalham ativamente no laboratório, em especial a equipe Thulio, composta por: Thulio Nascimento, João Matheus, Ellen Vitoria e Victoria Lima, onde sofremos juntos, comemoramos juntos, enfrentamos greve, chuvas e todas as loucuras que podem acontecer durante um experimento.

Agradeço, ainda, aos meus amigos Maria Clara Eugênio, Maria Clara Almeida, Camila Rosa, André Rodrigues e, de modo especial, a Victoria Lima, que me acompanhou ao longo desta jornada. Estendo minha gratidão a minha igreja, para ser mais específica a congregação da Assembleia de Deus Betel da Rua Geórgia, que esteve em oração por mim e me apoiou em diversos momentos.

À minha família, não há palavras que sejam suficientes para expressar minha gratidão. Eles são minha base, minha força e o motivo pelo qual continuo lutando. Esta conquista não é apenas minha, mas de todos nós. É nossa vitória, fruto de nossa luta. Agradeço especialmente à minha mãe, meu pai, minha irmã, minha tia Tianny e meu avô, vocês são o meu maior tesouro, e ao meu namorado e futuro esposo, Fernando, com quem compartilho mais esse passo em nossa longa história juntos.

Por fim, dedico esta conquista à minha avó, que foi minha maior incentivadora. Quando a perdi, cheguei a pensar em desistir do curso e seguir outro caminho. No entanto, sei que ela jamais desejaria isso. Esta vitória é, acima de tudo, por ela. Obrigada, vovó. Eu te amarei eternamente. Amo sorrir porque o riso me lembra você. Amo aprender, porque foi você quem me incentivou a ter uma mente curiosa e sempre buscar ir além. A todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa caminhada: o meu mais sincero e profundo agradecimento.

*“Se usado para construir ideias, crescer e se reinventar, o conhecimento é saudável,
mas se usado só para abarrotar o cérebro, ele é uma fonte de ansiedade.”*

(CURY, 2014.)

Resumo

A regeneração muscular esquelética é um processo altamente coordenado e dinâmico, essencial para a recuperação de tecidos danificados após lesão. Esse processo envolve mecanismos celulares e moleculares que incluem necrose, inflamação, proliferação celular, angiogênese e remodelamento estrutural. No entanto, em casos de lesão extensa, a regeneração pode ser comprometida, levando à formação de fibrose e prejuízo funcional. Diante disso, estratégias terapêuticas como o uso de células-tronco mesenquimais (CTMs) e a prática de exercício físico moderado têm sido investigadas com o objetivo de potencializar a reparação muscular por meio da modulação da resposta inflamatória. Neste contexto, o presente trabalho avaliou os efeitos da aplicação de microenxertos contendo CTMs associada ou não ao exercício físico sobre o perfil inflamatório na regeneração muscular de ratos Wistar submetidos à indução de lesão. Para isso, foram utilizados 120 animais, alocados aleatoriamente em quatro grupos experimentais: GC1 (sem exercício e sem CTM), GC2 (sem exercício e com CTM), GC3 (com exercício e sem CTM) e GC4 (com exercício e com CTM), cada grupo contou com 24 animais (6 animais por grupo), totalizando 120. A análise histológica foi realizada no músculo gastrocnêmio anterior direito coletado nos dias 3, 7, 14, 21 e 30 (intervalos de eutanásia) após a lesão, corados com hematoxilina e eosina (HE), com o objetivo de caracterizar aspectos morfológicos como necrose, hemorragia, infiltrado inflamatório e fibrose. A avaliação qualitativa demonstrou que o grupo GC4, tratado com CTMs e submetido ao exercício físico moderado, apresentou uma resposta inflamatória mais eficiente e controlada ao longo do tempo, com redução progressiva da necrose e da infiltração leucocitária, menor grau de fibrose e aumento da presença de mioblastos em fases tardias, indicando um ambiente propício à regeneração muscular funcional. O GC1, grupo controle negativo, apresentou padrão inflamatório intenso e prolongado, com elevada necrose tecidual, hemorragia persistente e fibrose evidente, o que reflete uma regeneração deficiente. O grupo GC2 apresentou redução discreta da inflamação e da necrose em relação ao GC1, evidenciando os efeitos terapêuticos isolados das

CTMs, embora sem potencial reparativo pleno. Já o GC3 apresentou um aumento do processo inflamatório nos primeiros dias, possivelmente como resultado do estresse físico induzido pelo exercício, seguido de reorganização estrutural nos estágios finais. A análise comparativa entre os grupos evidenciou que a combinação entre CTMs e exercício físico foi a estratégia mais eficaz para modular a inflamação e otimizar a regeneração muscular. Assim, os dados obtidos reforçam o potencial terapêutico das células-tronco mesenquimais, especialmente quando aplicadas em sinergia com protocolos de exercício físico controlado, representando uma abordagem promissora para intervenções em lesões musculares extensas.

Palavras-chave: fibrose; infiltrado inflamatório; músculo estriado esquelético; necrose; potencial; regeneração; terapia celular.

Abstract

Skeletal muscle regeneration is a highly coordinated and dynamic process, essential for the recovery of damaged tissues after injury. This process involves cellular and molecular mechanisms that include necrosis, inflammation, cell proliferation, angiogenesis, and structural remodeling. However, in cases of extensive injury, regeneration can be compromised, leading to the formation of fibrosis and functional impairment. Therefore, therapeutic strategies such as the use of mesenchymal stem cells (MSCs) and moderate physical exercise have been investigated to enhance muscle repair by modulating the inflammatory response. In this context, this study evaluated the effects of applying micrografts containing MSCs, with or without physical exercise, on the inflammatory profile of muscle regeneration in Wistar rats subjected to injury. For this purpose, 120 animals were used, randomly allocated into four experimental groups: GC1 (without exercise and without CTM), GC2 (without exercise and with CTM), GC3 (with exercise and without CTM) and GC4 (with exercise and with CTM), each group had 24 animals (6 animals per group), totaling 120. Histological analysis was performed on the right anterior gastrocnemius muscle collected on days 3, 7, 14, 21 and 30 (euthanasia intervals) after injury, stained with hematoxylin and eosin (HE), with the aim of characterizing morphological aspects such as necrosis, hemorrhage, inflammatory infiltrate and fibrosis. The qualitative evaluation demonstrated that the GC4 group, treated with MSCs and subjected to moderate physical exercise, presented a more efficient and controlled inflammatory response over time, with a progressive reduction in necrosis and leukocyte infiltration, a lower degree of fibrosis, and an increased presence of myoblasts in late stages, indicating an environment conducive to functional muscle regeneration. The GC1 group, the negative control group, presented an intense and prolonged inflammatory pattern, with high tissue necrosis, persistent hemorrhage, and evident fibrosis, reflecting deficient regeneration. The GC2 group showed a slight reduction in inflammation and necrosis compared to the GC1 group, demonstrating the isolated therapeutic effects of MSCs, although without full reparative potential. The GC3 group, on the other hand, presented an increase in the inflammatory

process in the first few days, possibly as a result of exercise-induced physical stress, followed by structural reorganization in the final stages. The comparative analysis between the groups showed that the combination of MSCs and physical exercise was the most effective strategy for modulating inflammation and optimizing muscle regeneration. Thus, the data obtained reinforce the therapeutic potential of mesenchymal stem cells, especially when applied in synergy with controlled physical exercise protocols, representing a promising approach for interventions in extensive muscle injuries.

Keywords: cell therapy; fibrosis; inflammatory infiltrate; necrosis; potential; regeneration; skeletal striated muscle.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 14 |
| 2.1 IMUNOMODULAÇÃO | 14 |
| 2.2 TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO | 15 |
| 2.3 INFLAMAÇÃO E REGENERAÇÃO MUSCULAR | 16 |
| 2.4 CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NA REGENERAÇÃO MUSCULAR | 17 |
| 2.4.1 NEUTRÓFILOS | 17 |
| 2.4.2 MACRÓFAGOS | 18 |
| 2.4.3 LINFÓCITOS | 19 |
| 2.5 PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NA REGENERAÇÃO | 19 |
| 3. OBJETIVOS: | 21 |
| 3.1 GERAL: | 21 |
| 3.2 ESPECÍFICOS: | 21 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 4.1 AMOSTRA: | 22 |
| 4.2 INDUÇÃO DA LESÃO | 22 |
| 4.3 MICROENXERTOS CONTENDO CTMs | 23 |
| 4.4 TREINAMENTO FÍSICO DE INTENSIDADE MODERADA | 24 |
| 4.5 COLETA E ANÁLISE DE DADOS | 25 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 5.1 Avaliação por intervalo de tempo | 28 |
| 5.1.1 Intervalo de 30 dias | 28 |
| 5.1.2 Intervalo de 21 dias | 29 |
| 5.1.3 Intervalo de 14 dias | 30 |
| 5.1.4 Intervalo de 7 dias | 31 |
| 5.1. Intervalo de 3 dias | 32 |
| 5.2 Avaliação dos tratamentos | 34 |
| 6. CONCLUSÃO | 37 |
| 7. REFERÊNCIAS | 39 |

1. INTRODUÇÃO

O músculo estriado esquelético é essencial para movimento, postura e metabolismo, representando cerca de 40% da massa corporal (ZIMOWSKA *et al.*, 2020). A inflamação nesse tecido, quando controlada, auxilia na reparação, mas, se crônica ou desregulada, pode causar destruição de fibras, fibrose, perda de força e incapacidade, comprometendo a função motora, afetando o controle da glicose, o metabolismo de lipídios e a comunicação com outros órgãos por meio de miocinas (CHIU *et al.*, 2020).

Geralmente, o termo inflamação é associado a um processo negativo e deletério que precisa ser controlado, especialmente devido à sua implicação em diversas patologias crônicas, como doenças autoimunes e câncer (MOUSSA *et al.*, 2020). Entretanto a inflamação também abrange a resposta imune aguda desencadeada por infecção ou lesão tecidual (CHAZAUD, 2020). Ademais, a resposta inflamatória é o mecanismo biológico fundamental para a restauração da homeostase tecidual (VANNELLA & WYNN, 2017).

A regeneração muscular pode ser ativada por traumas mecânicos, toxinas ou doenças degenerativas, e envolve uma resposta coordenada entre células inflamatórias, células-tronco musculares (células satélites) e remodelação da matriz extracelular. As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células adultas multipotentes, com origem mesodérmica, capazes de autorrenovação e diferenciação em diferentes linhagens celulares. Elas têm se destacado por seu papel na regeneração tecidual, imunomodulação e secreção de fatores tróficos (YU *et al.*, 2023).

No século XX, foram realizados os primeiros estudos com CTMs, a partir dos trabalhos pioneiros de Friedenstein, que identificou, na medula óssea, células com morfologia fibroblastoide — ou seja, com aparência semelhante à dos fibroblastos (PHINNEY, 2024), as células mais comuns do tecido conjuntivo — capazes de formar colônias aderentes em cultivo e de se diferenciar em linhagens osteogênicas (OLIVEIRA *et al.*, 2024). A partir dessa contribuição científica, foi possível

compreender a origem das CTMs e seu potencial de autorrenovação e multidiferenciação (GUMUCIO *et al.*, 2015).

Arnold Caplan, com base nessas descobertas, propôs o termo “células-tronco mesenquimais”, ao observar que essas células apresentavam propriedades similares às das células-tronco, como capacidade de diferenciação, autorrenovação e regeneração tecidual (HUANG *et al.*, 2022). Além disso, elas secretam fatores de crescimento com ação parácrina e podem ser isoladas de diferentes tecidos, como: tecido conjuntivo, ossos, polpa dentária e medula óssea (LIMA & DURLI, 2018). Em 2015, Caplan reafirmou o uso do termo célula-tronco mesenquimais, destacando o papel dessas células na manutenção da homeostase do microambiente tecidual e seu potencial terapêutico em diversas patologias (CAPLAN, 2015).

Essas contribuições conceituais foram fundamentais para a padronização proposta posteriormente pela International Society for Cellular Therapy (ISCT), que em 2006 definiu critérios mínimos para caracterização das CTMs: adesão ao plástico em condições padrão de cultivo; expressão dos marcadores CD105, CD73 e CD90; e ausência de marcadores hematopoiéticos e leucocitários, como CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a e HLA-DR (DOMINICI *et al.*, 2006).

Adicionalmente, foi estabelecida a necessidade de demonstrar, *in vitro*, a capacidade de diferenciação em osteoblastos, adipócitos e condroblastos, além da aptidão para secretar fatores que ativam células residentes e promovem regeneração tecidual (SANDONÀ *et al.*, 2021). Em razão dessas características, as CTMs têm se consolidado como candidatas promissoras para intervenções clínicas em doenças musculoesqueléticas, imunomediadas e degenerativas (HELAL *et al.*, 2016).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO

O tecido muscular estriado esquelético recebe essa denominação por sua estrutura organizada em estriações visíveis ao microscópio e por ser responsável pela movimentação voluntária do corpo, especialmente ao tracionar os ossos aos quais está fixado. Suas fibras são longas, multinucleadas e altamente especializadas para realizar contrações rápidas, precisas e sob controle consciente (SANTOS *et al.*,

2023). Representando uma significativa proporção da massa corporal total, esse tecido também atua na postura, estabilização articular e regulação da homeostase energética e metabólica do organismo (ZIMOWSKA *et al.*, 2020).

Uma característica notável do músculo esquelético é sua capacidade regenerativa, sendo um dos poucos tecidos do corpo capazes de restaurar estrutura e função após lesão. Essa regeneração é essencial não apenas para a recuperação após danos, mas também para a manutenção da massa muscular ao longo da vida, influenciando diretamente a saúde geral e a funcionalidade do indivíduo (ARTHUR & GRONTHOS, 2020). A estrutura do músculo esquelético é altamente organizada, com fibras musculares agrupadas em feixes e envolvidas por camadas de tecido conjuntivo: o epimísio (que recobre o músculo inteiro), o perimísio (que envolve feixes de fibras, chamados fascículos) e o endomísio (que recobre individualmente cada fibra muscular) (WOSCZYNA *et al.*, 2019).

2.2 IMUNOMODULAÇÃO

As CTMs atuam de forma simultânea no sistema imunológico, mediadas por interações célula a célula e pela sinalização parácrina, regulando outras células como linfócitos T, células NK e macrófagos (YAN *et al.*, 2023). Elas apresentam grande potencial terapêutico em doenças inflamatórias e imunológicas, exercendo influência significativa sobre diversos componentes do sistema imune, tanto inato quanto adaptativo (WANG *et al.*, 2012). Essa relevância se manifesta nos processos inflamatórios, nos quais as CTMs interagem de maneira organizada com os infiltrados celulares — como neutrófilos, macrófagos e linfócitos — modulando suas funções de forma altamente coordenada, de acordo com a progressão da inflamação (LIANG *et al.*, 2023).

No contexto da inflamação aguda, os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa celular (YAN *et al.*, 2019). Subseqüentemente, ocorre a migração e ativação dos macrófagos (Figura 1), que desempenham papel central nas fases inflamatórias. As CTMs os regulam por meio de fatores solúveis, como prostaglandinas e TGF- β (LIU *et al.*, 2022). Por fim, as células do sistema imune adaptativo, especialmente os linfócitos T, tornam-se predominantes. Embora os mecanismos ainda não estejam completamente esclarecidos, evidências indicam que as CTMs podem inibir tanto a proliferação de linfócitos T quanto sua

modulação da resposta imune, e a anti-inflamatória ou regenerativa (URSO, 2013), na qual o reparo ocorre conforme a capacidade das células parenquimatosas, resultando em cicatrização ou regeneração, como no tecido muscular esquelético (BRITT *et al.*, 2023). Frente à lesão, a regeneração muscular envolve três etapas sequenciais: fase inflamatória, com infiltração de macrófagos (KHAN & ANSAR AHMED, 2016); fase de ativação e fusão, na qual células satélites se diferenciam em mioblastos que se fundem para reparar ou formar fibras musculares (CHARGÉ & RUDNICKI, 2020); e fase de remodelação, em que o tecido recém-formado é integrado à matriz extracelular, restabelecendo a função contrátil.

Consideradas células de alta qualidade por terem um potencial miogênico intrínseco, as células satélites são pouco expansíveis e sofrem uma senescência aceleradamente (HELAL *et al.*, 2016). Durante a regeneração, - segunda fase principal - as células satélites passam por três estados miogênicos. No estado de quiescência, permanecem em repouso junto às fibras musculares, prontas para serem ativadas em caso de lesão. Uma vez ativadas, entram na fase de proliferação, multiplicando-se para formar uma população de células miogênicas.

Em seguida, durante a fase de diferenciação, estas células tornam-se mioblastos, que se fundem entre si ou com fibras musculares danificadas, formando estruturas multinucleadas chamadas miotubos (CHIU *et al.*, 2020). Os miotubos representam um estágio intermediário essencial no processo regenerativo. Inicialmente imaturos, esses miotubos possuem sarcômeros pouco organizados e baixa capacidade contrátil (TIAN *et al.*, 2015). Com o tempo, amadurecem e se desenvolvem em fibras musculares funcionais, integrando-se ao tecido muscular e contribuindo para a recuperação da massa e da força muscular (PEREIRA, *et al.*, 2013).

2.4 CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NA REGENERAÇÃO MUSCULAR

2.4.1 NEUTRÓFILOS

Os neutrófilos se destacam dentre os leucócitos circulantes mais abundantes e compõem a principal barreira do sistema imunológico. Em contraste com os macrófagos, Amulic *et al.* (2012) observaram que eles apresentam um curto período de vida, sendo de 8 a 12 horas na circulação sanguínea, até irem para diversos tecidos. Estudos como o de Abbas *et al.* (2011) colocam os neutrófilos como

principais responsáveis no processo de inflamação aguda, porém, também estão na frente como tipo celular com maior potencial de modular essa resposta.

Ademais, os neutrófilos são capazes de recrutar monócitos e outras células imunes, revelando uma capacidade anti-inflamatória (CAI *et al.*, 2021). Há uma complexa interação entre o músculo estriado esquelético e os neutrófilos em lesões, uma vez que os neutrófilos se infiltram e agravam o dano original, promovendo a remoção do tecido danificado e auxiliando na liberação de radicais livres (SHU *et al.*, 2024). Nas 24h iniciais após a lesão, ocorre uma cascata de eventos e os neutrófilos começam esse evento, pois são atraídos para o músculo pelo complemento (C5), fatores liberados pelas plaquetas, secreção de CXCL1 e prostaglandinas, assim como o CCL2/MCP-1 (TORRES-RUÍZ *et al.*, 2023).

O estudo de Su *et al.* (2019) mostrou que a infiltração prolongada dos neutrófilos compromete o processo de cicatrização, agravando o dano muscular. Entretanto, quando as células-tronco mesenquimais modulam o ambiente e controlam a resposta imune exacerbada o grau de dano às fibras musculares é reduzido. Quando os macrófagos são recrutados para o local da lesão por mediadores inflamatórios e quimiotáticas, eles desempenham um papel crucial na resolução da inflamação e no início da regeneração muscular, liberando fatores de crescimento, como PDGF e TGF- β , que promovem a proliferação e diferenciação das células satélites, fundamentais para a regeneração das fibras musculares danificadas (WILHELMSEN *et al.*, 2013).

2.4.2 MACRÓFAGOS

Os macrófagos, elementos-chave no processo de regeneração, foram descritos pela primeira vez por Elie Metchnikoff em 1883, posteriormente, foram classificadas de acordo com o seu tamanho: macrófagos (grandes comedores) e micrófagos (pequenos comedores, conhecidos como neutrófilos) (DASGUPTA & KEEGAN, 2012). Além disso, os macrófagos se desenvolvem a partir de células-tronco hematopoiéticas residentes na medula óssea, com monócitos no sangue como um tipo de célula intermediária (LIU *et al.*, 2022).

Após a lesão no músculo estriado esquelético, observa-se a infiltração predominante de macrófagos do tipo M1, considerados um fenótipo com perfil pró-inflamatório, com potencial citotóxico robusto e capacidade fagocítica elevada,

sendo definidas por expressar o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II, bem como óxido nítrico e IL-6, IL-12, TNF- α e IL-1 β (ROSS *et al.*, 2021).

Após gerar um ambiente pró-inflamatório, os M1 limpam os detritos celulares e gradualmente ocorre a infiltração dos macrófagos M2, que liberam diversos fatores de crescimento e secretam citocina anti-inflamatórias, exercendo assim, um papel crucial no processo de regeneração do músculo e na formação de cicatrizes (SON *et al.*, 2017). Em seguida, depois da infiltração, o M2 passa a estimular a proliferação de células-satélites, promovendo também, a sua diferenciação e fusão dessas células, formando novas fibras celulares (QIU *et al.*, 2018). Os macrófagos M2 também secretam fatores tróficos como IL-10, TGF- β e IGF-1, que favorecem a reparação tecidual, angiogênese e remodelamento da matriz extracelular, criando um ambiente propício para a regeneração eficiente do tecido muscular (BRITT *et al.*, 2023).

2.4.3 LINFÓCITOS

Sendo uma parte vital do sistema imunológico, os linfócitos após uma lesão no músculo estriado esquelético, são recrutados inicialmente de células do sistema imune inato, seguido pela infiltração de linfócitos T, que desempenham papel regulador essencial na regeneração tecidual (WANG *et al.*, 2012). Entre os linfócitos, os T CD8⁺ estão associados à citotoxicidade e, quando sua presença é prolongada, podem induzir necrose das fibras musculares e aumento da fibrose, prejudicando o reparo (CHEN *et al.*, 2019). Por outro lado, os T CD4⁺, especialmente os linfócitos T reguladores (Tregs), promovem a regeneração ao secretar citocinas como IL-10 e TGF- β , que reduzem a inflamação e favorecem a atividade das células satélites — células-tronco musculares responsáveis pela regeneração das fibras lesionadas (DEYHLE & HYLDAHL, 2018).

Além disso, regulando diretamente a inflamação, os linfócitos T influenciam indiretamente o fenótipo dos macrófagos, promovendo a transição para o perfil M2, que é regenerativo (HEYLMANN *et al.*, 2014). A ausência de linfócitos T em modelos animais leva a menor proliferação de células satélites, acúmulo exagerado de leucócitos e aumento de fibrose, evidenciando seu papel essencial no equilíbrio entre inflamação e reparo. As células-tronco mesenquimais (CTMs) potencializam esse processo por meio de mecanismos imunomoduladores. Elas atuam suprimindo

a ativação excessiva dos linfócitos T efetores (CD4⁺ Th1/Th17 e CD8⁺), e promovem o aumento de Tregs (RASMUSSEN *et al.*, 2005).

2.5 PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NA REGENERAÇÃO

As células-tronco mesenquimais (CTMs) têm sido amplamente estudadas devido ao seu potencial terapêutico na regeneração muscular, especialmente quando associadas ao exercício físico. Essas células, derivadas de tecidos como medula óssea, tecido adiposo e cordão umbilical, possuem propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias, podendo influenciar diretamente a recuperação do tecido muscular lesionado (GAZDIC *et al.*, 2015). O papel das CTMs na regeneração muscular está relacionado à sua capacidade de secretar citocinas e fatores de crescimento, como o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Esses fatores promovem a proliferação de células satélites, essenciais para a regeneração muscular, além de reduzir a inflamação e modular a deposição de matriz extracelular, o que pode minimizar a fibrose muscular (GOLLIE & SEN, 2022).

A relação entre o exercício físico e as CTMs se dá pelo fato de que o exercício físico pode aumentar a mobilização e a diferenciação dessas células, além disso, o exercício pode melhorar a vascularização local e otimizar o recrutamento de CTMs para o local da lesão, acelerando o processo de regeneração (COSMO, 2012). Em modelos experimentais, essa associação tem mostrado resultados promissores, como redução da área de necrose, resposta inflamatória ordenada, o que contribui para o recrutamento de macrófagos com perfil anti-inflamatório (M2) (DALIANG *et al.*, 2019).

Ademais, destaca-se que as CTMs utilizadas neste modelo experimental (ratos da linhagem wistar) são autólogas, ou seja, obtidas do próprio animal, o que representa uma vantagem significativa ao evitar reações imunológicas adversas e garantir maior compatibilidade celular. Segundo Li *et al.* (2021), a utilização de CTMs autólogas reduz riscos de rejeição e mantém as propriedades regenerativas mesmo em microambientes lesados, onde células alogênicas poderiam ter sua funcionalidade comprometida (CAMPOS *et al.*, 2007).

A aplicação de microenxertos autólogos obtidos pelo sistema Rigenera® em lesões musculares críticas tem demonstrado induzir a formação de tecido regenerado com morfologia organizada, evidenciada por menor infiltrado inflamatório e reconstituição mais eficiente da arquitetura muscular e a atuação das CTMs presentes nesses microenxertos (LIMA *et al.*, 2021). Esses microenxertos são obtidos por meio da fragmentação mecânica de pequenos fragmentos de tecido, tal processo é realizado com o auxílio de dispositivos como os rigenracons® que gera a suspensão de células ricas em CTMs (PAOLIN, 2024) e é potencializada quando inseridas em um microambiente previamente estimulado pelo exercício físico.

A prática sistematizada de exercício físico promove adaptações fisiológicas que resultam na melhora dos sistemas orgânicos prejudicados por condições como obesidade, incluindo a capacidade regenerativa do músculo esquelético e a atividade funcional das células satélites. Dessa forma, é essencial avaliar se o exercício físico pode influenciar diretamente o funcionamento dessas células, contribuindo para a regeneração muscular e a modulação da resposta inflamatória associada a esse processo (LEE *et al.*, 2012).

Nesse contexto, infere-se que a associação entre os microenxertos contendo células-tronco mesenquimais e o exercício físico promove uma interação sinérgica capaz de modular a resposta inflamatória local e acelerar o processo regenerativo. Essa interação contribui para uma cicatrização mais eficiente e organizada, prevenindo o desenvolvimento de inflamação persistente ou fibrose excessiva. Assim, este trabalho parte da hipótese de que os microenxertos contendo CTMs, quando combinados à prática sistematizada de exercício físico, atuam como moduladores da inflamação, favorecendo a regeneração muscular de forma mais rápida, funcional e com menor comprometimento estrutural.

3. OBJETIVOS:

3.1 GERAL:

Investigar os efeitos dos microenxertos contendo células-tronco mesenquimais associados ao exercício físico de intensidade moderada na regeneração do músculo estriado esquelético em ratos Wistar, com foco na modulação do perfil inflamatório.

3.2 ESPECÍFICOS:

1- Classificar qualitativamente o infiltrado inflamatório (neutrófilos, macrófagos e linfócitos) nas lesões musculares entre os grupos tratados com microenxertos, exercício físico e controle, utilizando um sistema de escore (normal, leve, moderado e grave);

2- Analisar o impacto combinado dos tratamentos (microenxertos e exercício físico) na intensidade da resposta inflamatória durante o processo de cicatrização do músculo esquelético, com base na classificação do infiltrado inflamatório.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA:

O estudo utilizou 120 ratos da linhagem Wistar, obtidos do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (DFF/UFPE), aprovado pela CEUA, processo nº0061/2023. Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em condições controladas: alojados em gaiolas de policarbonato forradas com maravalha de pinus, sob temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, com ciclo claro-escuro de 12 horas (luz com intensidade de 400 Lux), e acesso irrestrito à água e ração (*ad libitum*), garantindo bem-estar e condições adequadas para os procedimentos experimentais.

Os 120 animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: G1 (sem tratamento e sem exercício), G2 (sem tratamento e com exercício), G3 (com tratamento e sem exercício) e G4 (com tratamento e com exercício). Cada grupo foi subdividido conforme cinco tempos experimentais (dias 3, 7, 14, 21 e 30 após o início do tratamento) com 6 animais por tempo. Assim, cada grupo contou com 24 animais (6 animais por grupo), totalizando 120 animais no estudo.

4.2 INDUÇÃO DA LESÃO

A indução da lesão muscular foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Contreras-Muñoz (2016). Inicialmente, os ratos foram sedados por meio de injeção intramuscular de quetamina (75 mg/kg) associada à xilazina (10 mg/kg) e, em seguida, posicionados em decúbito ventral. Para garantir a imobilização durante o procedimento, a cauda e as extremidades foram fixadas com fitas adesivas sobre uma superfície de cortiça. A seguir, foi realizada a tricotomia das patas traseiras direitas, região escolhida para a indução da lesão, seguida da desinfecção com etanol, a fim de facilitar a visualização da área esbranquiçada que indica a localização indicada no protocolo.

A lesão no tecido muscular esquelético foi induzida no músculo tríceps sural por meio da introdução de uma agulha de biópsia de 18G, com diâmetro interno de 0,84 mm. A inserção foi realizada a 3 mm acima da junção músculo-tendínea, com uma profundidade controlada de 2 mm, atravessando os gastrocnêmios medial e lateral, nessa ordem. Esse procedimento representado na figura 2, permitiu a produção de uma lesão padronizada, reprodutível e localizada, adequada para posterior análise dos efeitos terapêuticos.

Fonte: Acervo pessoal, 2025.



Figura 2. Indução da lesão com uma agulha de biópsia na pata traseira direita do animal. **A)** Averiguando o tamanho do animal para o processo de indução; **B)** Localizando e medindo o local exato onde será realizada a lesão; **C)** Introduzindo a agulha de biópsia no local medido.

4.3 MICROENXERTOS CONTENDO CTMs

Com os animais ainda sob o efeito da sedação os microenxertos contendo células-tronco mesenquimais foram obtidos por meio do dispositivo Rigenera® System (Human Brain Wave, Turim, Itália). Foi realizada tricotomia na região lateral direita da coluna vertebral dos animais. Em seguida, foi ressecado um fragmento cutâneo com área aproximada de 1 cm², que foi fragmentado manualmente em porções menores para otimizar a desagregação celular. As amostras foram inseridas nos dispositivos Rigeneracons®, contendo 0,5 mL de solução salina estéril, e submetidas à desagregação mecânica por cinco minutos. O microenxerto obtido foi imediatamente utilizado no protocolo terapêutico, sendo administrado por via intramuscular com auxílio de seringa estéril acoplada a agulha hipodérmica 30G × 6 mm (figura 3).

Fonte: Acervo pessoal, 2025.



Figura 3. Aplicação dos microenxertos contendo as CTMs. **D)** Equipamento Rigenera processando o fragmento coletado; **E)** Local onde o fragmento de pele é colocado após a fragmentação manual; **F)** Aplicação do microenxerto no local da lesão.

4.4 TREINAMENTO FÍSICO DE INTENSIDADE MODERADA

Para a execução do protocolo de exercício aeróbico de intensidade moderada, foi empregada uma esteira motorizada modelo Insight EP-131, conforme descrito por Monteiro *et al.* (2015). O regime de treinamento foi conduzido durante três semanas consecutivas, com frequência de cinco sessões semanais, cada uma com 30 minutos de duração. A intensidade do exercício foi aumentada progressivamente, com o objetivo de induzir adaptações cardiorrespiratórias e musculoesqueléticas compatíveis com a atividade. Na primeira semana, os animais foram expostos a uma velocidade de 5 m/min, visando à habituação ao protocolo e ao equipamento. Na segunda semana, a velocidade foi elevada para 10 m/min e, na terceira semana, a velocidade foi ajustada para 15 m/min, mantendo-se dentro da faixa de intensidade moderada previamente estabelecida para o modelo experimental. Essa progressão teve como finalidade assegurar uma sobrecarga gradativa e segura, respeitando a capacidade aeróbica dos animais e promovendo efeitos benéficos sobre parâmetros fisiológicos, como perfusão tecidual, metabolismo energético e modulação da resposta inflamatória, os quais estiveram diretamente relacionados ao processo de regeneração muscular esquelética (MONTEIRO *et al.*, 2015).

4.5 COLETA E ANÁLISE DE DADOS

Os animais foram eutanasiados por meio de superdosagem intramuscular de quetamina associada a xilazina. Em seguida o ventre muscular lesionado foi coletado, removendo-se os tecidos adjacentes para evitar contaminação da amostra, e foi fixado em solução de formaldeído a 10%, tamponada com fosfato de sódio 0,01M e pH 7,3, por um período de 24 horas. O processo de preparação histológica prosseguiu com a diafanização em xilol e posterior inclusão em blocos de parafina.

A partir desses blocos, foram realizados cortes histológicos com espessura de 5 µm, os quais foram montados em lâminas e analisados sob microscopia óptica. Para análise histopatológica os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE), permitindo o processo qualitativo das amostras. As imagens dos cortes histológicos foram capturadas por uma câmera de vídeo Sony®, acoplada a um microscópio Olympus® Bx50.

Para a classificação qualitativa utilizou-se parâmetros histopatológicos como: inflamação (infiltrados celulares), fibrose, necrose (degeneração e fibras hiperosinofílicas) e regeneração de fibras musculares marcadas por núcleos centralizados cada parâmetro foi pontuado usando como base o protocolo preestabelecidos por Sanz-Nogués *et al.*, (2023). A presença de miotubos foi avaliada com base em sua morfologia característica (núcleos centrais), sendo considerada um indicador da progressão do processo regenerativo (BHARGAVA *et al.*, 2013).

Foram analisados os animais distribuídos aleatoriamente nos quatro grupos experimentais (GC1: sem exercício e sem CTM; GC2: Sem exercício se com CTM; GC3: com exercício e sem CTM; GC4: com exercício e com CTM) a fim de avaliar os diferentes tratamentos nos seguintes intervalos de tempo: 3, 7, 14, 21 e 30 dias após a lesão. Para a comparação realizou-se uma análise qualitativa do infiltrado inflamatório com base nos parâmetros descritos por Sanz-Nogués *et al.* (2023), classificando a presença de neutrófilos, macrófagos e linfócitos em: normal (0), leve (1), moderado (2) e grave (3) como mostra a tabela 1.

Ademais, foram incluídos nessa classificação a presença de hemorragia (sua presença no tecido muscular estriado esquelético significa que houve ruptura de vasos sanguíneos, sendo comum em lesões ou traumas musculares), necrose (uma das principais causa da ativação inflamatória) e fibrose.

Tabela 1. Escores de avaliação qualitativa

| NORMAL (0) | |
|----------------------|---|
| Infiltração celular | O tecido adiposo está presente em locais normais (perimísio), infiltrados celulares ausentes. |
| Necrose | Ausente e sem fibras hiperosinofílicas; estrutura muscular preservada. |
| Congestão/Hemorragia | Ausente; |
| Fibrose | Ausente. |
| LEVE (1) | |
| Infiltração celular | Focal com presença de neutrófilos e macrófagos. Presença de miotubos; |
| Necrose | Ausente ou focal com fibras hiperosinofílicas; |
| Congestão/Hemorragia | Presente isoladamente ou acompanhada de necrose/fibrose/inflamação |
| Fibrose | Ausente/discreta. |
| MODERADO (2) | |
| Infiltração celular | Multifocal, inflamação aguda; |
| Necrose | Multifocal; |
| Congestão/Hemorragia | Visível entre as fibras musculares; |
| Fibrose | Presente. |
| GRAVE (3) | |
| Infiltração celular | Multifocal, inflamação crônica; |
| Necrose | Extensa, fibras hiperosinofílicas, perda de estriações; |
| Congestão/Hemorragia | Presente/Hemorragia intersticial; |
| Fibrose | Presente e extensa. |

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos como o de Fereshteh & Hinz, (2024) mostraram que a detecção de fibroblastos entre as fibras aponta para o início da síntese de matriz extracelular, etapa fundamental na remodelação, embora também represente um risco para deposição excessiva de colágeno. Esse achado é coerente com a literatura, uma vez que a necrose muscular libera DAMPs (figura 4) capazes de sustentar a ativação celular e perpetuar a inflamação. Caso essa condição se prolongue, há potencial de evolução para um quadro crônico, em que os macrófagos passam a secretar mediadores, como o TGF- β , que induzem a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos e favorecem a fibrose muscular.

Fonte: Acervo pessoal, 2025.

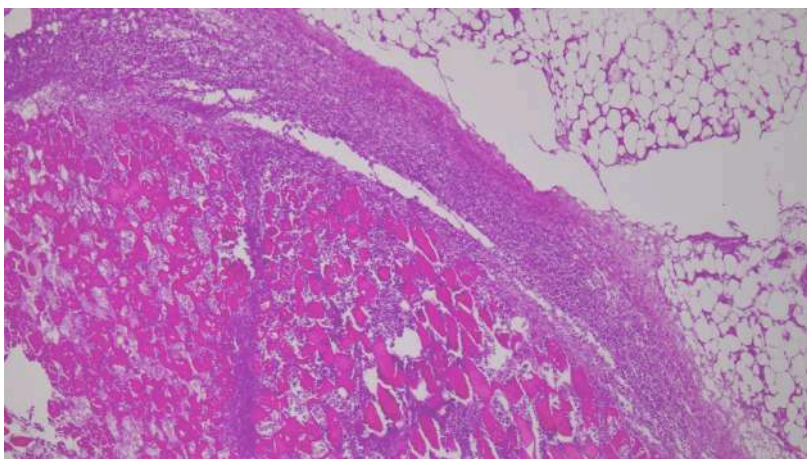


Figura 4: GC2, intervalo de 14 dias - 4X. Observa-se que as fibras musculares estão com morfologia comprometida, com áreas de fragmentação e citoplasma hipereosinofílico, indicativo de necrose em andamento. Há intenso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos e macrófagos, o que revela uma resposta inflamatória ativa no tecido. Entre as fibras, notam-se alguns fibroblastos, responsáveis pela síntese da matriz extracelular e potencial remodelação do tecido. Também é possível ver atividade regenerativa, sugerindo que o processo de regeneração já foi iniciado.

5.1 AVALIAÇÃO POR INTERVALO DE TEMPO

5.1.1 INTERVALO DE 3 DIAS

GC1: Para este intervalo, o grupo controle negativo seguiu o padrão esperado da fase inflamatória, ela foi aguda composta por neutrófilos, macrófagos e linfócitos padrão típico do início do processo regenerativo. Necrose com perda de estriações e regeneração não evidenciada, como esperado para este tempo tão precoce.

GC2: O grupo apresentou um escores padrão de intensidade moderada, para este tempo é previsto uma inflamação aguda, o que foi acompanhado em resposta à lesão, a maioria dos animais apresentaram um quadro de transição para um perfil mais regenerativo precocemente, entretanto o rato 1 demonstrou uma necrose grave e o rato 2 apresentou uma inflamação intensa, dominada por neutrófilos (característica de inflamação aguda), com necrose acentuada e fragmentação nuclear.

A fragmentação nuclear é um processo típico de morte celular avançada, tanto por necrose quanto por apoptose em condições patológicas severas. Isso representa um estágio irreversível de destruição da célula, em que o DNA e o núcleo se fragmentam por perda de integridade nuclear. Além disso, a inflamação invadiu o tecido adiposo adjacente, o que mostra que a lesão extrapolou o músculo e começou a comprometer estruturas vizinhas.

GC3: Apesar da intervenção com exercício físico, o grupo GC3 apresentou padrão histológico semelhante ao controle (GC1), com necrose extensa e hemorragia intensa. O infiltrado inflamatório, majoritariamente neutrofílico, foi abundante, e não se observaram sinais relevantes de regeneração. Aparentemente, o exercício precoce contribuiu para a intensificação da lesão, exacerbando o dano inicial ao tecido muscular e não promovendo uma resposta regenerativa adequada. Não se observaram indícios de fibrose ou reorganização tecidual nesse estágio.

GC4: A fase inflamatória aguda está presente, típica dos primeiros 3 dias após a lesão muscular. A necrose observada resulta da degeneração das fibras musculares danificadas, o que é esperado após lesão ou trauma induzido (e potencializado pelo exercício). A hemorragia indica rompimento de vasos locais, enquanto o infiltrado celular (provavelmente rico em neutrófilos) é característico da tentativa de limpeza dos tecidos necrosados. A presença precoce de fibrose focal no Rato 3 pode indicar que a resposta inflamatória foi mais intensa ou desorganizada nesse animal, o que é um ponto de alerta, mesmo com CTMs. A presença de necrose e inflamação confirma o início do processo regenerativo. A hemorragia relaciona-se com o estresse do exercício sobre um tecido já fragilizado (Figura 5).

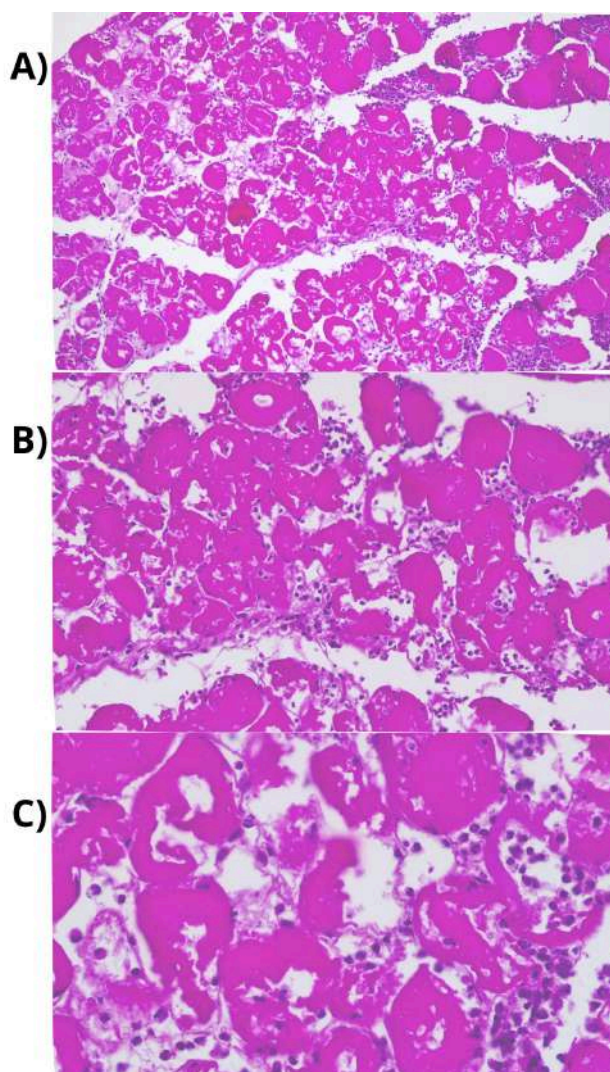


Figura 5: A) GC2 - 3 dias - 10X; B) GC2 - 3 dias - 20X;; C) GC2 - 3 dias - 40X. Grupo sem exercício e com tratamento de CTMs.

Diferentes dos outros animais do grupo GC2, esse animal (figura 5) apresenta uma desorganização estrutural das fibras musculares que pode ser observada de maneira mais ampla na imagem A com a objetiva 10X. A partir disso é possível constatar a presença de necrose hialina (imagem D) - um tipo de degeneração celular caracterizada pela deposição de material homogêneo e eosinófilo, a objetiva de 40X nos permite observar esse processo que é caracterizada por fibras hipereosinofílicas, perda de estriações (na imagem B pode-se ver a perda de estriações e a necrose) e infiltrado inflamatório misto, além de hemorragia focal.

5.1.2 INTERVALO DE 7 DIAS

GC1: Em ambos os animais foi possível observar o processo de congestão, em alguns casos como nos ratos: 5, 3 e 2, essa congestão extravasou causando uma hemorragia. De modo que ela vai está associada a uma necrose multifocal, essa combinação é um indicador de necrose hemorrágica, relatada por Pereira *et al.* (2022), é uma condição grave que ocorre quando a morte de tecido (necrose), com perda de estriações e fibras hiperosinofílicas.

Entretanto, nesses animais também foi possível observar núcleo tentando centralizar e uma inflamação discreta mostrando que o músculo estriado esquelético ainda está na fase de transição entre uma inflamação aguda ou crônica, a depender do seu processo de regeneração.

GC2: Foi identificado um quadro clássico de necrose muscular, com perda de fibras e uma coloração nuclear bem intensa (núcleos roxos), que sugere um estado de picnose quando o núcleo celular encolhe e condensa durante a morte celular. A presença de macrófagos e fibrose indica que o tecido já iniciou um processo de remodelação cicatricial, embora precocemente.

A tentativa de regeneração é demonstrada pelas células satélites ativadas, que começam a proliferar para formar miotubos e regenerar as fibras. A lesão foi focalmente extensa, ou seja, afetando um território relativamente amplo dentro do tecido, e ao redor havia fibras hiperosinofílicas, típicas de necrose recente.

GC3: Ambos os animais mantiveram um padrão de inflamação aguda leve, com presença de neutrófilos, entretanto no rato 6 houveram núcleos já centralizados que confirmaram que o músculo iniciou a regeneração. A ausência de inflamação nesse animal ou necrose visível mostra que o processo agudo passou e o tecido começa a se reorganizar estruturalmente. Apesar da ausência de tratamento, o exercício pode ter contribuído com estímulos mecânicos que favorecem a regeneração.

GC4: Neste estágio identificou-se duas fases importantes relacionadas à inflamação, a fase inflamatória e a proliferativa devido a transição da fase aguda para a fase de proliferação. A necrose persistente em dois animais indica que a limpeza tecidual ainda não foi completada. Porém, a presença de núcleos centralizados no Rato 3 demonstra que a regeneração já começou. O cenário mostra um processo regenerativo em curso, com sinais de resposta das CTMs.

5.1.3 INTERVALO DE 14 DIAS

GC1: Neste intervalo o grupo teve uma inflamação considerada focal com predominância de neutrófilos e macrófagos, ambos os animais apresentavam necrose em andamento com perda de estriações e fibrose. Conclui-se que esse grupo após 14 dias apresentou necrose e fibrose persistentes e tentativas desordenadas de regeneração.

GC2: Houve uma variação considerável nos resultados desse grupos, tendo a presença de infiltrado celular: neutrófilo, macrófago e linfócito na grande maioria (figura 4), mas nos ratos 1 e 2 não havia a presença de neutrófilos. O rato 1 teve um infiltrado classificado como leve, composto apenas por linfócitos em área focal, entre os feixes musculares. A perda de estriações e a formação de miotubos organizados em feixes demonstraram que o tecido estava em regeneração ativa, embora lenta. Foi possível observar o processo de angiogênese, sendo ela um marcador positivo.

GC3: Após duas semanas, o tecido muscular apresentou características normais, sem sinais de inflamação ou fibrose. A ausência de tratamento foi compensada, neste caso, pela própria fisiologia muscular e talvez por estímulos do exercício.

GC4: Há dois extremos nesses resultados. No Rato 2, possivelmente há resolução total da inflamação e regeneração adequada, mostrando um efeito positivo das CTMs associadas ao exercício. No entanto, o Rato 6 exibe um quadro oposto, com persistência da necrose, inflamação ativa e fibrose extensa, o que pode indicar que o processo inflamatório foi mal resolvido ou que houve excesso de estímulo mecânico. A resposta ao tratamento é heterogênea. Enquanto um animal apresenta regeneração eficaz, outro evidencia processo inflamatório crônico e fibrose consolidada.

5.1.4 INTERVALO DE 21 DIAS

GC1: No rato 2 foi visto uma inflamação aguda, nos demais animais isso também pode ser notado juntamente com a presença de espaçamento entre os feixes musculares com substituição de tecido adiposo, um sinal de degeneração crônica quando o tecido muscular não se regenera. A congestão estava presente em ambos os animais, ela é comum em áreas inflamadas e estão associadas a

hemorragia. Uma vez que há o extravasamento sanguíneo, a hemorragia observada foi multifocal e acentuada, com necrose presente em todos os animais deste tempo, porém ela variou entre leve a severa.

Nos ratos 4 e 5 foi possível observar uma fibrose muscular intensa, o que impede o tecido de se regenerar (SANTOS *et al.*, 2023). Foi visto em um único animal (rato 3) uma limitada tentativa de regeneração evidenciada por núcleos centralizados, mostrando a formação de miotubos. Neste caso, o músculo apresenta degeneração persistente com fibrose e regeneração ineficaz.

GC2: Nesse intervalo de eutanásia tem-se uma regeneração mais estabelecida ou resolução parcial. A maioria dos animais apresenta sinais de regeneração eficaz, com limpeza celular e remodelação tecidual. O infiltrado inflamatório é controlado ou ausente.

GC3: A combinação de necrose, perda de fibras musculares e fibrose multifocal indica uma inflamação crônica persistente. O infiltrado inflamatório, ainda presente, revela um ambiente de dano contínuo. O exercício, sem suporte regenerativo, pode ter perpetuado o estresse mecânico e mantido a ativação dos mecanismos inflamatórios. A ausência de resolução, mesmo após 21 dias, confirma falha no processo regenerativo.

GC4: Embora o tratamento tenha promovido regeneração em alguns indivíduos, a persistência da fibrose e da inflamação crônica indica que as CTMs com o exercício físico aeróbico de intensidade moderada, não foram suficientes para inibir completamente a formação de tecido cicatricial. Fatores como a resposta imune individual ou a intensidade do exercício ainda interferem significativamente.

5.1.5 INTERVALO DE 30 DIAS

GC1: Verificou-se inflamação crônica marcada por macrófagos e linfócitos, além de hemorragia intersticial em ambos os animais. Além da presença de necrose plurifásica (várias fases de morte celular) e fibrose intensa, com tentativas de regeneração demonstradas pela centralização dos núcleos. Segundo Tu & Li (2023), após 30 dias o processo inflamatório deveria estar resolvido. Contudo, a persistência de inflamação, necrose residual e fibrose indica que o tecido não completou o ciclo regenerativo.

GC2: O tecido muscular apresentou sinais evidentes de regeneração tecidual como : presença de miotubos, organização das fibras e a arquitetura parcialmente restaurada. A fibrose muscular foi limitada e circunscrita, indicando que o processo de deposição de colágeno não ultrapassou os limites da reparação funcional. A ausência ou leve grau de infiltrado inflamatório nos animais reforça a eficácia das CTMs na modulação da resposta imune e estímulo à regeneração estrutural e vascular.

GC3: Em ambos os animais a avaliação neste intervalo de eutanásia seguiu o padrão de necrose e infiltrado leve. Entretanto, no rato 1 houve a ausência de infiltrado inflamatório, mesmo diante de necrose evidente, tal achado pode representar exaustão da resposta imune local ou falência da fase inflamatória, resultando em regeneração incompleta e crônica. O exercício isolado, sem suporte celular, não foi capaz de conter a progressão da lesão descrita por Ma *et al.*, (2025). Essa falha pode ser atribuída à intensificação da agressão mecânica induzida por sobrecarga muscular em tecido previamente lesado.

GC4: Observou-se necrose e inflamação ativa em níveis moderados, composta principalmente por macrófagos e linfócitos (figura 5). A hemorragia intensa pode ter sido agravada pelo exercício em fase ainda vulnerável do tecido (MA *et al.*, 2025). A angiogênese foi detectada em algumas áreas, mas insuficiente para sustentar a regeneração.

Fonte: Acervo pessoal, 2025.

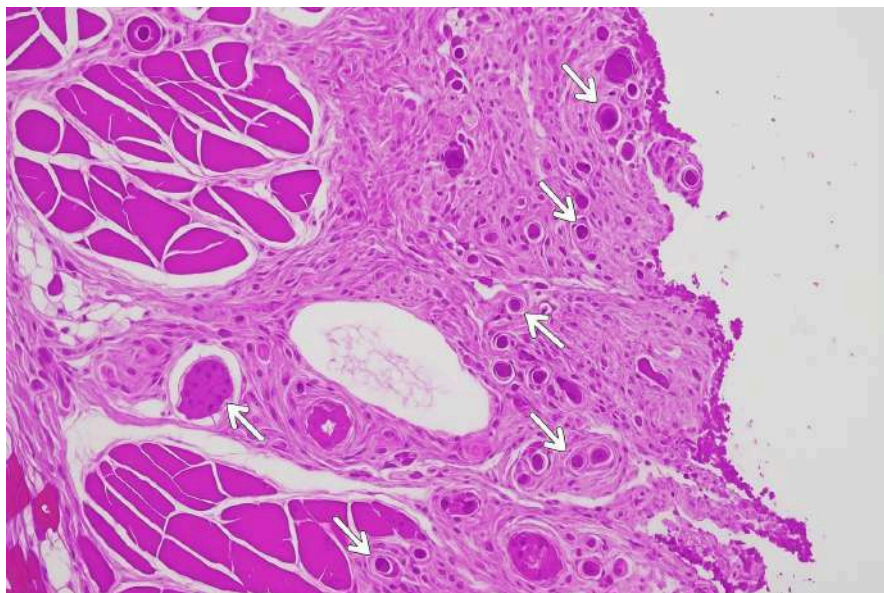


Figura 6: GC4, intervalo de 30 dias - 10X. As setas brancas destacam o processo de angiogênese ativa no tecido muscular em regeneração.

5.2 AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS

De acordo com o estudo de Daliang *et al.*, (2019) em modelos animais, eles afirmaram que a associação das células-tronco mesenquimais com o exercício físico aeróbico de intensidade moderada é benéfico para a regeneração tecidual do músculo estriado esquelético. Entretanto, Ma e colaboradores em 2025 publicaram um estudo afirmando que exercícios de intensidade moderada e/ou de alta intensidade como corrida em esteira (reta ou inclinada) e natação prejudicam a cicatrização muscular e liberam fatores que promovem a formação de fibrose, causando também hemorragia quando o animal é lesionado e é submetido ao exercício físico.

Ademais, essas afirmações atuais podem ser comprovadas em alguns grupos experimentais que fizeram o exercício físico: GC3 e GC4. Ao longo dos diferentes intervalos de eutanásia, identificou-se que a resposta inflamatória nos grupos tratados com CTMs, especialmente quando associados ao exercício físico (GC4), apresentou pontos mais favoráveis a regeneração tecidual do que o GC3 que fez apenas o exercício físico, mostrando o impacto do tratamento entre esses grupos.

No GC4 foi visto em todos os animais hemorragia de moderada a grave. No quesito inflamatório, o GC4 teve um bom recrutamento dos infiltrados celulares, maior organização estrutural comparado aos demais grupos. Já no GC2 (sem exercício e com tratamento CTM) foi apresentada infiltração neutrofílica igualmente intensa, porém com discreta presença de macrófagos, indo de encontro aos achados de Liang *et al.* (2023). As células-tronco mesenquimais não exibiram a sua capacidade anti-fibrótica e atuaram precocemente na modulação da resposta inflamatória, o que foi positivo em intervalos como 21 e 30, pois promoveu um ambiente favorável à regeneração tecidual.

No GC3 (grupo sem tratamento com CTM e com exercício), o infiltrado foi intenso, recrutado de forma tardia, com necrose e hemorragia intensa. Esse agravamento decorre da sobrecarga mecânica imposta a um tecido previamente lesionado, tendo o seu resultado muito semelhante ao GC1 (sem exercício e sem

tratamento com CTM), exceto pelo agravamento da intensificação da lesão que não corrobora com o artigo de Gollie & Sen publicado no ano de 2022.

Aos 7 e 14 dias, os grupos mantinham sinais de proliferação celular, no GC4 foi observado o processo de angiogênese, no GC1, o infiltrado permanece predominante e há presença de áreas de necrose associadas à ausência de regeneração visível. O GC2 apresenta macrófagos em maior quantidade, além de evidências discretas de regeneração. No GC3, ainda se observa infiltrado misto com presença de necrose multifocal e início de fibrose resultado compatível com o impacto do exercício físico isolado na lesão muscular o que indica uma progressão eficiente no processo regenerativo (figura 7) (WANG *et al.*, 2012; LIANG *et al.*, 2023).

Fonte: Acervo pessoal, 2025.

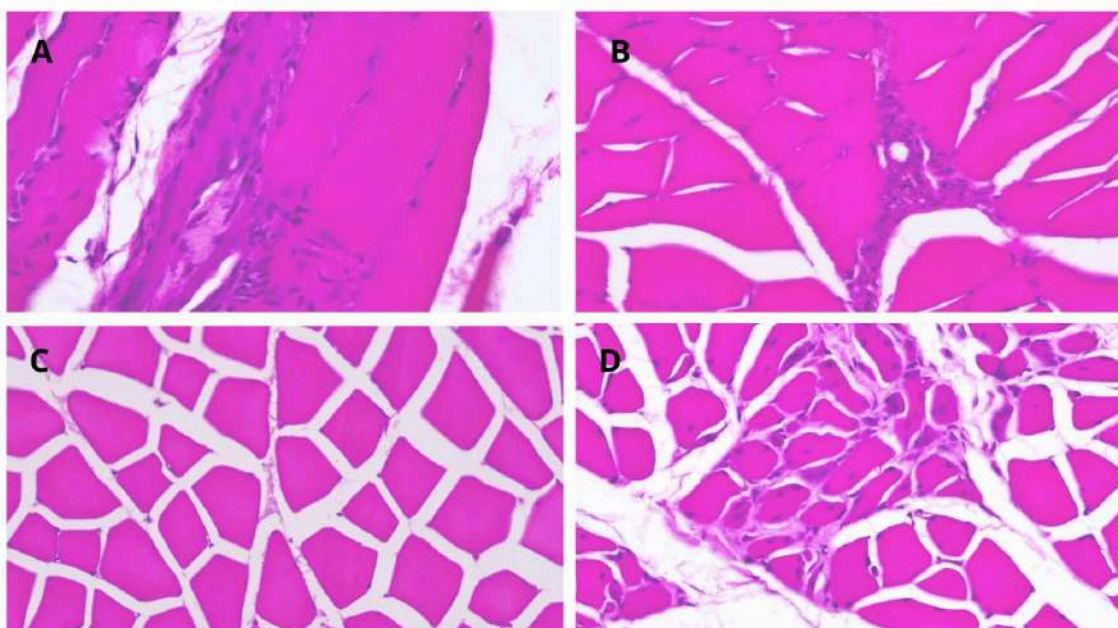


Figura 7: **A) GC1 - 14 dias - 20X:** Lesão visível com predominância de neutrófilos e macrófagos, marcado por perda de estriações (corte longitudinal); **B) GC2 - 14 dias - 20X:** Lesão visível, fibras hiperosinofílicas e infiltrado inflamatório presente; **C) GC3 - 14 dias - 20X:** Sem sinais de necrose, inflamação ou fibrose, funcionalmente íntegro; **D) GC4 - 14 dias - 20X:** Fibras musculares de tamanhos variados indicando regeneração, fibrose com regeneração ativa.

Aos 21 dias, o GC1 ainda apresentava áreas de inflamação crônica e fibrose acentuada, sendo pontuados nos escores como grave a maioria dos animais, não havia indícios de processo de resolução. Já o GC2 manter as características

descritas em 2017 por Son e colaboradores que afirmaram a tendência das CTMs em trabalhar para recuperar o tecido lesionado, nesse intervalo foi observado fibras musculares organizadas, núcleos centralizados e infiltrado inflamatório de leve a moderado, apontando assim, a efetividade das CTMs.

O GC3, por outro lado, mostrou fibrose e menor quantidade de fibras regeneradas, sugerindo que o exercício físico não ajudou na modulação do ambiente inflamatório e contribuiu para o aumento do depósito de matriz extracelular e para rigidez tecidual. Já o GC4 mantém regeneração robusta, com vascularização consolidada e disposição alinhada das fibras musculares, com um escore de normal (0) a leve (1) o que demonstra resolução do quadro inflamatório, mesmo que de forma lenta.

Aos 30 dias, o padrão se consolida. O GC1 apresenta fibrose extensa e ausência de regeneração funcional, reflexo de um processo crônico e descontrolado. O GC2 mostra tecido muscular parcialmente reorganizado, com áreas regeneradas e fibrose residual discreta. O GC3 permanece com fibrose significativa, e escasso tecido muscular funcional, reafirmando o impacto negativo do exercício físico sem modulação inflamatória. Já o GC4 apresenta arquitetura tecidual próxima à normalidade, com fibras musculares maduras e vascularização funcional. A presença de vasos neoformados e a ausência de tecido cicatricial excessivo indicam que o ambiente biológico favoreceu a resolução inflamatória e a regeneração tecidual eficaz.

Os achados indicam que a associação de microenxertos contendo CTMs ao exercício moderado (GC4) favorece a modulação inflamatória e a regeneração muscular, embora apresente limitações. Apesar de estudos prévios apontarem benefícios consistentes dessa estratégia (WOSCZYNNAN *et al.*, 2019), neste trabalho observou-se hemorragia recorrente em todos os animais do GC4, possivelmente decorrente do estresse mecânico precoce sobre um tecido em reorganização vascular. Ainda assim, os efeitos estruturais positivos, como formação de miotubos, angiogênese e alinhamento de fibras, superaram os danos inflamatórios e fibrogênicos registrados nos demais grupos.

Por outro lado, o grupo submetido apenas ao exercício (GC3) apresentou aumento progressivo de fibrose, reforçando a hipótese de que o exercício físico sem controle da inflamação pode intensificar o depósito de matriz extracelular. Estudos prévios já demonstraram que exercícios de alta intensidade aumentam

significativamente os níveis de TGF- β 1, um potente indutor da fibrose, e que a ativação persistente e desregulada de células de reparação (como fibroblastos e progenitores mesenquimais residentes) leva à formação de tecido cicatricial rígido e funcionalmente comprometido.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que as CTMs exercem papel fundamental na regeneração muscular e que sua associação ao exercício físico, quando controlada e bem dosada, potencializa os efeitos terapêuticos. Os resultados também demonstraram que a combinação de microenxertos e exercício físico modulou a intensidade da resposta inflamatória, promovendo uma transição mais eficiente de um infiltrado predominantemente neutrofílico para um infiltrado rico em macrófagos, condição essencial para a resolução da inflamação e início da regeneração. Isso evidencia que a estratégia não apenas influencia a qualidade do reparo, mas também atua diretamente no controle da dinâmica inflamatória durante o processo de cicatrização do músculo esquelético.

O trabalho reforça o valor de abordagens terapêuticas combinadas e a necessidade de considerar o momento da aplicação e o estado inflamatório local, além de indicar a importância de estudos futuros com análises quantitativas de infiltrado celular, estresse oxidativo e citocinas pró-inflamatórias para aprofundar os mecanismos envolvidos.

7. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 125-130.

AMULIC, B.; CIDLOWSKI, J. A.; KOENIG, S. *et al.* Função dos neutrófilos: dos mecanismos à doença. *Revisão Anual de Imunologia*, v. 30, 2012. p. 459-489.

ARTHUR, A.; GRONTHOS, S. Clinical application of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells to repair skeletal tissue. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 24, 2020, p. 9759-9774.

BHARGAVA, D.; ANANTANARAYANAN, P.; PRAKASH, G. *et al.* Initial inflammatory response of skeletal muscle to commonly used suture materials: An animal model study to evaluate muscle healing after surgical repair - histopathological perspective. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2013, p. 491–496.

BRITT, R. D., Jr; RUWANPATHIRANA, A.; FORD, M.L., *et al.* Macrophages orchestrate airway inflammation, remodeling, and resolution in asthma. *International journal of molecular sciences*, v. 24, n. 13, 2023, p. 227-241.

CAI, B.; ZHANG, Z.; WANG, T. *et al.* N2-polarized neutrophils guide bone mesenchymal stem cell recruitment and initiate bone regeneration: a missing piece of the bone regeneration puzzle. *Advanced Science*, v. 8, n. 19, 2021, p. 210-218.

CAPLAN, A. I. Células-tronco mesenquimais adultas: quando, onde e como. *Stem Cells International*, v. 15, 2015, p. 1-6.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, v. 20, n. 1, 2007, p. 51–58.

CONTRERAS-MUÑOZ, P. A new surgical model of skeletal muscle injuries in rats reproduces human sports lesions. *International Journal of Sports Medicine*, v. 37, n. 03, 2016, p. 183-190.

COSMO, S. E. Efeito do exercício associado ao transplante de células-tronco sobre a função ventricular de ratos pós-infarto agudo do miocárdio. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, v. 27, 2012, p. 542–551.

CURY, A. Petrus Logos: o guardião do tempo. São Paulo: *Academia de Inteligência*, 2014.

CHARGÉ, S. B. P.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiological reviews*, v. 84, n. 1, 2004, p. 209–238.

CHAZAUD, B. Inflammation and skeletal muscle regeneration: Leave it to the macrophages! *Trends in immunology*, v. 41, n. 6, 2020, p. 481–492.

CHIU, C.H.; CHANG, T. H.; CHANG, S.S., *et al.* Application of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for muscle healing after contusion injury in mice. *The American journal of sports medicine*, v. 48, n. 5, 2020, p. 1226–1235.

CHEN, Q.; ZHANG, Y.; ZHU, H. *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells alleviate the daunorubicin-induced subacute myocardial injury in rats through inhibiting infiltration of T lymphocytes and antigen-presenting cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 121, 2019, p. 109157–109157.

DALIANG, Z.; LIFANG, Y.; HONG, F., *et al.* Netrin-1 plays a role in the effect of moderate exercise on myocardial fibrosis in rats. *PLOS ONE*, v. 14, n. 2, 2019, p. 825-832.

DASGUPTA, P.; KEEGAN, A. D. Contribution of Alternatively Activated Macrophages to Allergic Lung Inflammation: A Tale of Mice and Men. *Journal of Innate Immunity*, v. 4, n. 5-6, 2012, p. 478–488.

DEYHLE, M. R.; HYLDAHL, R. D. The Role of T Lymphocytes in Skeletal Muscle Repair From Traumatic and Contraction-Induced Injury. *Frontiers in Physiology*, v. 9, n. 20, 2018, p. 25-38.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I. *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, v. 8, n. 4, 2006, p. 315–317.

FERESHTEH SADAT YOUNESI; HINZ, B. The Myofibroblast Fate of Therapeutic Mesenchymal Stromal Cells: Regeneration, Repair, or Despair? *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 16, 2024, p. 812–849.

GAZDIC, M.; VOLAREVIC, V.; ARSENIJEVIC, N. *et al.* Mesenchymal stem cells: A friend or foe in immune-mediated diseases. *Stem cell reviews*, v. 11, n. 2, 2015, p. 280–287.

GOLLIE, J. M.; SEN, S. Circulating endothelial progenitor and mesenchymal stromal cells as biomarkers for monitoring disease status and responses to exercise. *Reviews in cardiovascular medicine*, v. 23, n. 12, 2022, p. 567-578.

GUMUCIO, J. P.; PHILLIPS, S. M.; ROTONDO, E. *et al.* Stromal vascular stem cell treatment decreases muscle fibrosis following chronic rotator cuff tear. *International Orthopaedics*, v. 40, n. 4, 2016, p. 759–764.

HELAL, M. A. M.; SHAHEEN, N. E. M.; ABU ZAHRA, F. A. Immunomodulatory capacity of the local mesenchymal stem cells transplantation after severe skeletal muscle injury in female rats. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, v. 38, n. 6, p. 414–422, 2016.

HEYLMANN, D.; RODEL, F.; KINDLER, T. *et al.* Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, v. 1846, n. 1, p. 121–129, ago. 2014.

HUANG, Y.; WU, Q.; TAM, P. K. H. Immunomodulatory Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells and Their Potential Clinical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 17, 2022, p. 100-123.

ISCT Homepage. Disponível em: <https://www.isctglobal.org/home>.

KOH, T. J.; BROOKS, S. V. Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *The Journal of Physiology, Oxford*, v. 562, n. 3, 2005, p. 899–913.

KHAN, D.; ANSAR AHMED, S. The Immune System Is a Natural Target for Estrogen Action: Opposing Effects of Estrogen in Two Prototypical Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*, v. 6, n. 6, 2016, p. 207-217.

LEE, S.; KIM, Y.; ARSLANIAN, S., *et al.* Relationships between insulin sensitivity, skeletal muscle mass and muscle quality in obese adolescent boys. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 66, 2012, p. 1366–1368.

LI, C.; ZHAO, H.; CHENG, L. *et al.* Allogeneic vs. autologous mesenchymal stem/stromal cells in their medication practice. *Cell & Bioscience*, v. 11, n. 1, 2021, p. 15-23.

LI, P.; DENG, R.; WU, J. *et al.* Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells/dental stem cells and their therapeutic applications. *Cellular & Molecular Immunology*, 2023, p. 1–12.

LIANG, D.; LIU, C.; YANG, M. Mesenchymal stem cells and their derived exosomes for ALI/ARDS: A promising therapy. *Heliyon*, v. 9, n. 10, 2023 p. 203-214.

LIMA, I. C.; DURLI, O. Células-tronco ovarianas e recuperação da fertilidade pós-quimioterapia em camundongos fêmeas. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

LIMA, F. C. S.; TEXEIRA, M. W.; SILVA JÚNIOR, V. A. *et al.* Avaliação da eficácia do sistema regeneracon no tratamento de lesões de calvária em ratos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 73, n. 1, 2021, p. 132–140.

LIU, J.; HAN, G.; LI, Y. *et al.* Mesenchymal stem cells and their microenvironment. *Stem Cell Research & Therapy*, v. 13, n. 1, 2022, p. 8-20.

MA, X.; LIU, B.; ZIMING, J. *et al.* Physical Exercise: A Promising Treatment Against Organ Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 1, 2025, p. 343–357.

MOUSSA, M. H.; HAMAM, G. G.; ELAIZIZ, A. E. A. *et al.* Comparative study on bone marrow-versus adipose-derived stem cells on regeneration and re-innervation of skeletal muscle injury in Wistar rats. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 17, n. 6, 2020, p. 887–900.

MONTEIRO, H. M. C.; GOMES, P. B.; LIMA, F. A. *et al.* Physical exercise versus fluoxetine: antagonistic effects on cortical spreading depression in Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 762, p. 49–54, 2015.

MURRAY, I. R.; WESTWOOD, D. A.; GILMOUR, P. S. *et al.* Recent insights into the identity of mesenchymal stem cells. *The Bone & Joint Journal*, v. 96-B, n. 3, 2014, p. 291–298.

OLIVEIRA, A. T.; RODRIGUES, C. A.; SOUZA, F. L. *et al.* Mesenchymal stem cells in animal reproduction: sources, uses and scenario. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine/Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 46, 2024, p. 24–32.

PAOLIN, E. Resolution of Non-Diabetic Intractable Wounds with Severe Comorbidities Using Autologous Micrografts. *International Journal of Clinical Case Reports and Reviews*, v. 19, n. 3, 2024, p. 01–09.

PEREIRA, L. M. M.; SOARES, A. F.; DE MELO, I. M. F. *et al.* The use of mesenchymal stem cells, obtained through the rigenera® technology, in the treatment of chronic wounds”, *International Journal of Development Research*, v. 12, 2022, p. 54936-54938.

PEREIRA, T.; GÄRTNER, A.; AMORIM, I. *et al.* Biomaterials and Stem Cell Therapies for Injuries Associated to Skeletal Muscular Tissues. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*, 2013.

PHINNEY, D. G. Alexander Friedenstein, Mesenchymal Stem Cells, Shifting Paradigms and Euphemisms. *Bioengineering*, v. 11, n. 6, 2024, p. 534-547.

QIU, X.; LIU, S.; ZHANG, H. *et al.* Mesenchymal stem cells and extracellular matrix scaffold promote muscle regeneration by synergistically regulating macrophage polarization toward the M2 phenotype. *Stem Cell Research & Therapy*, v. 9, n. 1, 2018, p. 88-103.

RASMUSSON, I.; RINGDÉN, O.; SUNDEBERG, B. *et al.* Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms. *Experimental Cell Research*, v. 305, n. 1, 2005 p. 33–41.

ROSS, E. A.; DEVITT, A.; JOHNSON, J. R. Macrophages: The Good, the Bad, and the Gluttony. *Frontiers in Immunology*, v. 12, n.12, 2021, p. 20-32.

SANDONÀ, M.; DI PIETRO, L.; ESPOSITO, F. *et al.* Mesenchymal Stromal Cells and Their Secretome: New Therapeutic Perspectives for Skeletal Muscle Regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 9, 2021, p. 400-415.

SANTOS, V. A.; CARDOSO H. S.; DE TÓTARO, P. I. S. Impactos do tratamento fisioterapêutico na regeneração muscular: uma revisão sistemática. Zenodo. *CERN European Organization for Nuclear Research*, 2023.

SANZ-NOGUÉS, C.; CREANE, M.; HYNES, S. O. *et al.* Desenvolvimento e validação de um sistema de pontuação semiquantitativa multiparamétrica para avaliação histopatológica da gravidade da isquemia no músculo esquelético. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, v. 12, 2023, p. 55 - 70.

SON, M.; CANGURU, W. C.; OH, S., *et al.* Advanced glycation end-product (AGE)-albumin from activated macrophage is critical in human mesenchymal stem

cells survival and post-ischemic reperfusion injury. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, 2017, p. 8-13.

SHU, L.-Z.; ZHANG, J.; LI, L. *et al.* From inflammation to bone formation: the intricate role of neutrophils in skeletal muscle injury and traumatic heterotopic ossification. *Experimental & Molecular Medicine*, v. 56, n. 7, 2024, p. 1523-1530.

SU, W.-H.; LI, X.; LI, M. *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells extricate bupivacaine-impaired skeletal muscle function via mitigating neutrophil-mediated acute inflammation and protecting against fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 17, 2019, p. 4312-4320.

TIAN, Z.-L.; WANG, J.; ZHANG, Z. *et al.* $\alpha 7$ nAChR is expressed in satellite cells at different myogenic status during skeletal muscle wound healing in rats. *Journal of Molecular Histology*, v. 46, n. 6, 2015, p. 499–509.

TIDBALL, J. G. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nature Reviews Immunology*, v. 17, n. 3, 2017, p. 165–178.

TORRES-RUÍZ, J.; GARCÍA, J.; LÓPEZ, L. *et al.* Inflammatory myopathies and beyond: the dual role of neutrophils in muscle damage and regeneration. *Frontiers in Immunology*, v. 14, 2023.

TOWERS, R.; MAN, J. Y.; BRADSTOCK, K. *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells obstruct AML-targeting CD8⁺ clonal effector and CAR T-cell function while promoting a senescence-associated phenotype. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, v. 73, n. 1, 2024, p. 10-25.

TU, H.; LI, Y. Inflammation balance in skeletal muscle damage and repair. *Frontiers in Immunology*, v. 14, n. 7, 2023, p. 14-28.

URSO, M. L. Anti-inflammatory interventions and skeletal muscle injury: benefit or detriment? *Journal of Applied Physiology*, v. 115, n. 6, 2013, p. 920–928.

VANNELLA, K. M.; WYNN, T. A. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annual Review of Physiology*, v. 79, n. 1, 2017, p. 593–617.

WANG, L.; ZHAO, Y.; SHI, S. Interplay between mesenchymal stem cells and lymphocytes: implications for immunotherapy and tissue regeneration: Implications for immunotherapy and Tissue regeneration. *Journal of dental research*, v. 91, n. 11, 2012, p. 1003–1010.

WILHELMSSEN, K.; FARRAR, K.; HELLMAN, J. Quantitative in vitro assay to measure neutrophil adhesion to activated primary human microvascular endothelial cells under static conditions. *Journal of Visualized Experiments*, n. 78, 2013, p. 23-27.

WOSCZYNA, M. N.; KONISHI, C. T.; CARBAJAL, E. E. P. *et al.* Mesenchymal stromal cells are required for regeneration and homeostatic maintenance of skeletal muscle. *Cell Reports*, v. 27, n. 7, 2019, p. 2029–2035.

YAN, L.; LI, J.; ZHANG, C. The role of MSCs and CAR-MSCs in cellular immunotherapy. *Cell Communication and Signaling*, v. 21, n. 1, 2023, p. 1-22.

YAN, W.; SUN, A.; TANG, L. *et al.* Inflammation in myocardial injury: mesenchymal stem cells as potential immunomodulators. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 317, n. 2, 2019, p. 213–225.

YU, X.; LIU, P.; LI, Z. *et al.* Function and mechanism of mesenchymal stem cells in the healing of diabetic foot wounds. *Frontiers in Endocrinology*, v. 14, 2023.

ZIMOWSKA, M.; ARCHACKA, K.; BRZOSKA, E. *et al.* IL-4 and SDF-1 increase adipose tissue-derived stromal cell ability to improve rat skeletal muscle regeneration. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 9, 2020, p. 3302-3313.

