

The use of mesenchymal stem cells in tendon regeneration in rats

O uso de células-tronco mesenquimais na regeneração do tendão em ratos

Received: 05-03-2024 | Accepted: 08-04-2024 | Published: 12-04-2024

Moisés Bonifácio Alves Ferreira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-0294-8780>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: moisesphysiovet@yahoo.com.br

Maria Vitória da Silva Xavier

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-6612-4769>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: mariavitoria.xavier@ufrpe.br

Victória Alferis Lima

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-0595-2376>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: victoria.alferis@ufrpe.br

Marcelo Weinstein Teixeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4342-5917>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: marcivet21@gmail.com

Mariza Brandão Palma

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6809-8396>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: mariza.palma@ufrpe.br

Anísio Francisco Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1493-7964>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: anisio.soares@ufrpe.br

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells are of great interest due to their regenerative potential and capacity to transdifferentiate into various cell lineages. The present study executed a narrative review of the literature on the influence of mesenchymal stem cells on the regeneration of tendon injuries. To accomplish this, a search was carried out in the Pubmed and Scielo databases using descriptors such as: Mesenchymal stem cell regeneration and application tendon rat; Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells for Tendon Tissue rat. Only research articles carried out on rats between 2011 and 2023 were included. 935 articles were found in the Pubmed database, and 43 articles were included based on the criteria of categorization, analysis of titles and abstracts. The articles showed benefits in relation to the use of stem cells in rat tendon injuries, but some studies showed that this repair was not 100% guaranteed to the state of the tendon originally, but associated with growth factors obtained a better induction of tenogenesis.

Keywords: Mesenchymal stem cell; BMSCs; Tendon injury, Regeneration; Tenogenesis.

RESUMO

As células-tronco mesenquimais são alvo de grande interesse por sua capacidade de transdiferenciação em diversas linhagens celulares e seu poder regenerativo. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão narrativa da literatura sobre a influência das células-tronco mesenquimais na regeneração de lesões tendíneas. Foi realizada uma busca nas bases de dados *Pubmed* e *Scielo* utilizando descritores como: Mesenchymal stem cell regeneration and application tendon rat; Embryonic Stem Cell–Derived Mesenchymal Stem Cells for Tendon Tissue rat. Foram incluídos apenas artigos de pesquisa realizadas com ratos, entre o período de 2011 até 2023. Foram encontrados 935 artigos na base de dados Pubmed, a partir do critério de categorização, análise dos títulos e resumos, foram incluídos 43 artigos da base de dados Pubmed. Os artigos apresentaram benefícios em relação ao uso de células-tronco em lesões do tendão de ratos, entretanto alguns estudos mostraram que esse reparo não foi 100% garantido ao estado do tendão originalmente, mas associado a fatores de crescimento obteve uma melhor indução da tenogênese.

Palavras-chave: Célula-tronco mesenquimal; BMSCs; Lesão tendínea; Regeneração; Tenogênese.

INTRODUÇÃO

Muito se tem discutido sobre o desafio da regeneração de tecidos lesionados e as células-tronco mesenquimais têm exibido um promissor tratamento para lesões no tendão (Urdzikova *et al.*, 2014). Alguns autores como Chen *et al.* (2008), relataram que essas células possuem a capacidade de se transdiferenciar em células epiteliais e linhagens derivadas do neuroectoderma e, além disso, as células-tronco mesenquimais podem migrar para locais de lesão, inflamação e tumores. Estas propriedades das células estaminais mesenquimais tornam-nas candidatas promissoras para utilização em medicina regenerativa de acordo com Chen *et al.* 2008. Essas notáveis células são caracterizadas por serem uma população multipotente, com morfologia de fibroblastos e que aderem ao plástico, além disso possuem auto-renovação (Monteiro; Argolo Neto; Del Carlo, 2010) e a capacidade que se tornou de grande interesse que é a sua alta plasticidade, ou seja, sua capacidade de diferenciação em variados tipos celulares (Wang *et al.*, 2020). Ademais, as células-tronco podem ser obtidas de diferentes fontes, tais como sangue do cordão umbilical (SCU), tecido do cordão umbilical (UC), e a mais comum que é a célula-tronco derivada da medula óssea (BMSC's) (Sim *et al.* 2023), entre outros.

Acerca dos tendões, eles são tecidos colágenos elásticos constituídos por células denominadas tenócitos, tendinosas ou tendinócitos (um tipo especial de fibroblastos alongados que se encontram entre os tendões). A principal função dele é transmitir força e conectar os músculos aos ossos para manutenção do movimento normal do corpo (Andarawis-Puri; Flatow; Soslowsky, 2015). Traumatismos dos tendões ocorrem frequentemente durante esportes e outras atividades rigorosas e geralmente estão associadas a morbidade significativa e movimentos articulares anormais (Yin, Guo, Wu *et al.*, 2016), estima-se que mais de 30 milhões de lesões ocorrem anualmente em todo o mundo (Lui; Wong, 2012).

Todavia, estudos mostraram que esta estrutura fibrosa costuma possuir uma cicatrização lenta, limitada e insatisfatória, devido às suas próprias funções bioquímicas (Yin, Guo, Wu *et al.*, 2015). Ainda, o autor Francisco Oliva afirmou: “as técnicas atualmente disponíveis para intervenção cirúrgica e reparo são inadequadas.” Apesar desta adversidade, há um desenvolvimento de estratégias aprimoradas para tratar essas lesões como a engenharia de tecidos que atualmente vem sendo aplicada progressivamente e que possuem as células-tronco como centro de seus avanços em pesquisas de reparação de lesão em tendões (Jiang *et al.*, 2016)

Referente a isto, a aplicação de células-tronco mesenquimais em ratos tem apresentado resultados encorajadores, com melhorias significativas na cicatrização e na recuperação da função do tendão (Gissi *et al.*, 2020). A sua cura envolve três fases: inflamação, reparação e remodelação. Na segunda fase da cicatrização, o número de fibroblastos no processo da cicatrização na ferida aumenta para realizar a deposição da matriz e novas fibras de colágeno são formadas (Selek *et al.*, 2014).

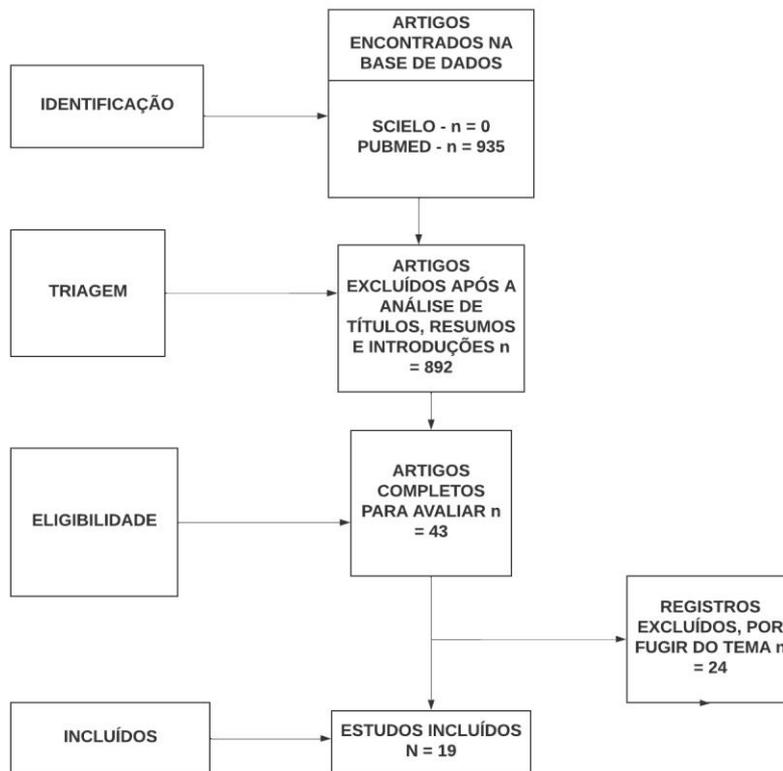
Trabalhos científicos têm comprovado a eficácia das BMSC's (Lu *et al.*, 2019) para o tratamento regenerativo dos tendões e o seu potencial aumentado se associado a fatores de crescimento como o TGF- β 1 (fator de crescimento transformante beta 1), CTGF (fator de crescimento do tecido conjuntivo), GDF-6 (fator de diferenciação de crescimento) e bFGF (fator básico de crescimento de fibroblastos) (Kraus *et al.*, 2014). Esse contexto tende a promover a indução da expressão gênica e a produção de colágeno que são significativos para a ocorrência da tenogênese, parte essencial do processo de reestruturação do tendão (Yin, Guo, Wu *et al.*, 2016).

À vista disso, o presente manuscrito tem como objetivo realizar uma revisão aprofundada da literatura sobre a influência, efetividade e características das células-tronco na regeneração do tendão em um modelo animal de rato e trazer uma perspectiva geral acerca do tema.

METODOLOGIA

Foi realizada uma busca na base de dados *Pubmed* e *Scielo* com os seguintes descritores: *Mesenchymal stem cell regeneration and application tendon rat*; *Differentiation of Mesenchymal Stem Cells tendon regeneration*; *Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells for Tendon Tissue rat*; *Characterization and regeneration of mesenchymal stem cells*. Foram encontrados 935 artigos na base de dados Pubmed e 0 artigos na base de dados da Scielo. A seleção foi feita com base na leitura do título, resumos e introdução, ademais, apenas artigos utilizando ratos foram incluídos, os escolhidos variam entre o período de 2011 a 2023. Logo após a leitura dos títulos, resumos e introdução houve a exclusão de materiais que fugiam da temática ou não abordaram o uso de células-tronco mesenquimais na regeneração do tendão em ratos.

Figura 1. Fluxograma ilustrando processo de categorização dos artigos que foram incluídos e excluídos na revisão.



Fonte: Autores, 2024.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise de título, resumo e introdução foram selecionados 43 artigos pela base de dados da *Pubmed* e 0 artigos na base de dados da *Scielo*, no quadro 1 podemos observar alguns estudos realizados utilizando células-tronco mesenquimais na regeneração de tendões em ratos.

Quadro 1. Artigos selecionados para elaboração da revisão sobre o uso de células-tronco mesenquimais para a regeneração do tendão em ratos.

Autor/Ano/País	População/Amostra	Resultados/Conclusão
Gissi, C <i>et al.</i> (2020) Itália	16 ratos Lewis machos adultos, cada um pesando entre 180 e 200 g, foram criados e mantidos em um biotério com ar condicionado sob condições específicas livres de patógenos.	Os dados analisados indicaram que populações enriquecidas de EV (vesículas extracelulares) foram obtidas de rBMSCs (célula-tronco mesenquimais da medula óssea). As concentrações mais elevadas de rBMSC-EVs melhoram a cicatrização do tendão, sem reações adversas locais detectáveis.
Jiang <i>et al.</i> (2016) China	As BMSC (células-tronco mesenquimais da medula óssea) foram isoladas de 6 coelhos e 8 ratos, todos adultos. O meio de cultura foi trocado a cada três dias.	Após 14 dias de incubação, o exame da morfologia celular mostrou que as BMSCs estavam alinhadas aleatoriamente e adotaram formas fusiformes ou semelhantes a fibrosas.
Kang <i>et al.</i> (2022) China	Foram usados ratos Sprague Dawley com dez semanas de idade (machos). Os ratos foram alojados em gaiolas (3-4 animais por gaiola) com comida e água ad libitum em uma sala com temperatura controlada (22±1 °C) sob um ciclo claro-escuro de 12/12 horas. Também foi realizada a PCR.	A expressão elevada de RUNX1 contribuiu para a cicatrização tendão-óssea após a reconstrução do LCA (ligamento cruzado anterior) usando BMSCs, como evidenciado pela recuperação ao redor do túnel ósseo e por uma interface tendão-osso mais estreita, bem como pela melhora da força biomecânica e pela promoção da osteogênese.
Kraus <i>et al.</i> (2014) Alemanha	Em 84 ratos Lewis machos, foram criados defeitos completos nos tendões e eles foram deixados sem tratamento, ou foram tratados com células-tronco mesenquimais. Após quatorze dias e vinte e oito dias, os tendões foram colhidos e analisados biomecanicamente e imunohistologicamente.	As análises mostraram efeitos apenas parcialmente positivos na estrutura e composição do tecido de reparo pelas células-tronco. No entanto, as melhorias biomecânicas são marginais na fase inicial e não estão presentes na fase posterior.
Lee <i>et al.</i> (2011) Estados Unidos da América	Foram utilizadas ratas fêmeas Sprague-Dawley (5-6 meses de idade).	Os resultados deste estudo mostram que a BMP-12 é um indutor altamente eficaz da diferenciação celular semelhante a tenócitos em BM-MSCs, e que o fenótipo induzido pela BMP-12 parece ser sustentado tanto in vitro como in vivo sem a necessidade de exposição adicional à BMP-12 exógena.
Urdzikova <i>et al.</i> (2014) República Tcheca	Foram utilizados 81 ratos com lesão induzida por collagenase e foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo recebeu células estromais mesenquimais humanas injetadas no local da lesão 3 dias após a indução da lesão, enquanto o segundo grupo recebeu solução	Ratos tratados com células estromais mesenquimais humanas apresentaram uma estrutura de matriz extracelular significativamente melhor e uma quantidade maior de colágeno I e colágeno III.

	salina.	
Olivia <i>et al.</i> (2019) Italia	Um defeito no tendão de Aquiles foi produzido em 24 ratos Lewis consanguíneos machos com 6 a 8 semanas de idade. Os animais eram em seguida, divididos aleatoriamente em oito grupos de três ratos cada.	Depois de isolados e cultivados, os rBMSCs foram analisados quanto ao imunofenótipo por citometria de fluxo, que confirmou a expressão de CD90 e a falta de CD45.
Pietschmann <i>et al.</i> (2013) Estados Unidos da América	76 ratos Lewis fêmeas e 4 machos da mesma linhagem foram utilizados. Células-tronco mesenquimais foram isoladas de animais machos e implantadas em fêmeas, permitindo a detecção da célula masculina por PCR para o gene SRY no cromossomo Y.	O estudo forneceu evidências de que os tenócitos aumentam as propriedades biomecânicas e histológicas do tecido recém-regenerado em um defeito tendíneo de tamanho normal quando comparados às MSC ou aos andaimos vazios.
Rui <i>et al.</i> (2012) China	Para este trabalho foram utilizados ratos Sprague-Dawley machos, com 4-6 semanas de idade.	Os resultados mostraram maior diferenciação osteogênica de TDSCs em comparação com BMSCs com e sem indução de BMP-2 in vitro.
Selek <i>et al.</i> (2014) Turquia	O estudo incluiu 40 ratos albinos Wistar. Os ratos foram divididos em dois grupos.	Histologicamente, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Nos estudos imunohistoquímicos, as CTMs localizaram-se mais intensamente na zona de reparo.
Yin, Z. <i>et al.</i> (2016) Hong Kong	O estudo incluiu a utilização de 34 ratos Sprague-Dawley machos, com 8 semanas, pesando 250-300g. $\frac{1}{3}$ do tendão patelar foi removido do ápice distal da patela até a inserção da tuberosidade da tíbia. Os ratos foram divididos em dois grupos, um tratado com BMSC's induzidas e BMSC'S em cola de fibrina	Os tendões reparados apresentaram melhores propriedades mecânicas, e uma rigidez significativamente maior no grupo das BMSC's induzidas. Além de que TGF-b1 foi o fator isolado mais potente na regulação positiva do gene tenogênico e produção de matriz extracelular. Histologicamente, os grupos com TGF-b1/CTGF e TGD-b1/BMP2/CTGF apresentaram níveis mais altos de expressão do colágeno tipo 1 e tenomodulina.
Zhang, B. <i>et al.</i> (2018) Japão	As BMSC's foram isoladas de ratos Sprague-Dawley de ambos os sexos, 4 semanas de idade e peso de 130 ± 10 g. 24 ratas Sprague-Dawley com 8 semanas e peso 250 ± 10 g, foram modelo de lesão do tendão de Aquiles e divididas em grupo controle, com esponja de colágeno, esponja de colágeno+BMSC's e esponja de colágeno+BMSC's e TGF- β 1 e estiramento cíclico.	A estimulação combinada de estiramento cíclico e TGF- β 1 poderia efetivamente aumentar a viabilidade celular e promover sinergicamente a diferenciação de BMSCs em tenócitos em um ambiente de cultura 3D.

Fonte: Autores do artigo, 2024.

Todos os estudos foram realizados apenas com roedores, alguns ratos com a linhagem Lewis e outros com a Sprague-Dawley, entre machos e fêmeas, com variações

de idades entre 4 a 8 semanas e outros já se apresentando adultos. Também foram analisados artigos que envolviam a aplicabilidade das células-tronco mesenquimais e outros que estudaram a relação entre elas e os fatores de crescimento, tais quais: CTGF, TGF- β 1, TGF- γ 1, BMP-12, bFGF e GDF-6. Todos os artigos analisados propuseram a investigação da influência e os efeitos das células-tronco mesenquimais na regeneração de lesões tendíneas. A tabela 1 mostra os autores, o país onde o estudo aconteceu, o ano de publicação, a amostra envolvida e o desfecho do estudo. Considerações acerca dos efeitos e da real aplicabilidade das células-tronco mesenquimais sozinhas ou juntamente com outros fatores em comparação de efetividade entre eles foram realizados e apresentaram resultados semelhantes, identificando que nem sempre as CTMs produzem um bom potencial ou repercussões relevantes.

Pietschmann, M. F. *et al.* (2019), avaliaram a regeneração do tendão em 76 ratos Lewis fêmeas através do uso de andaimes de ácido poliglicólico e colágeno tipo I separados em três grupos cada um semeado respectivamente com células-tronco mesenquimais (CTMs), tenócitos, estes derivados de ratos machos e um grupo controle. Eles observaram que o grupo tratado com os tenócitos apresentaram melhor resultado em relação a testes biomecânicos do que as CTMs, entretanto, em relação a resistência máxima a falha todos mostraram-se semelhantes. Rui *et al.* (2012) teve como objetivo em sua pesquisa comparar as células-tronco derivadas dos tendões (TDSCs) e as células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (BMSCs) em relação a resposta osteogênica com a BMP-2 que é uma proteína morfogênica óssea. Eles avaliaram 40 ratos Sprague-Dawley com 4 a 6 semanas de idade e obtiveram como resposta que as TDSCs podem ser fontes mais superiores as BMSCs em relação a expressão mais alta de RNA mensageiro e dos receptores de BMP, e possuíam maior osteogênese tanto com, quanto sem a proteína.

O trabalho realizado por Oliva *et al.* (2019) buscou testar estratégias de uso combinado das células-tronco mesenquimais com fatores como o ácido ascórbico e o T3. Os autores avaliaram os resultados em 24 ratos Lewis machos com 6 a 8 semanas e que possuíam um defeito no tendão de Aquiles de 2mm de diâmetro. Foi observado que o uso de AA+T3 atuam em sinergia acelerando a cicatrização do tendão in vivo, além de promoverem maior resistência e rigidez. Esses dois fatores promovem a diferenciação das células-tronco mesenquimais em tenócitos e a junção dos três apresentaram um valor

maior de colágeno tipo III, mas que se comparado a produção de colágeno tipo I feita pelo AA+T3 ele se apresenta com uma baixa expressão.

Acerca dos fatores de crescimento, o BMP-12 e GDF-6 se associados com as CTMs eles melhoraram a cicatrização do tendão. O TGF- β 1 (fator de crescimento transformante beta 1) e CTGF (fator de crescimento do tecido conjuntivo) quando combinados estimulam a expressão gênica para a tenogênese. Vale ressaltar, que a estimulação combinada de estiramento cíclico e TGF- β 1 poderia efetivamente aumentar a viabilidade celular e promover sinergicamente a diferenciação de BMSCs em tenócitos. Estudos recentes procuraram investigar um método confiável para aumentar a diferenciação tenogênica de BMSCs e gerar tecido funcional de neotendão in vivo. Notavelmente, TGF- β 1 foi o fator isolado mais potente que estimula a regulação positiva do gene tenogênico e a produção de matriz extracelular, os autores chegaram à conclusão que as BMSCs responderam melhor ao TGF- β 1/CTGF combinados e TGF- β 1. (Yin *et al.* 2016; Lee *et al.* 2011; Jiang *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2018).

Defeitos nos tendões de 84 ratos Lewis foram criados por Kraus *et al.* para analisar a influência das células-tronco mesenquimais e da expressão lentiviral do fator básico de crescimento dos fibroblastos (bFGF) em um modelo in vivo. Foram divididos 3 grupos, um controle com solução salina tamponado com fosfato, um com células-tronco mesenquimais e proteína fluorescente verde aprimorada e outro com as mesenquimais que expressa o bFGF lentiviralemente. Contudo, o grupo controle mostrou resultados biomecânicos de rigidez melhores que as CTMs apenas 28 dias depois e não houveram diferenças significativas imuno-histologicamente entre os dois grupos de CTMs.

Ademais, um estudo piloto demonstrou que as vesículas extracelulares das células-tronco mesenquimais da medula óssea (BMSC) de ratos podem ser uma potencial abordagem para melhorar o reparo do tendão. Além disso, os resultados sugerem que a eficácia desse tratamento é dose-dependente, ou seja, quanto maior a quantidade de vesículas utilizadas, melhores são os resultados obtidos. Assim, concentrações mais elevadas de rBMSC-EVs melhoram a cicatrização do tendão, sem reações adversas locais detectáveis (Gissi *et al.* 2020). Os autores revelaram que existem três fases principais da cicatrização do tendão, apresentando cascatas celulares e moleculares: 1 - inflamatória; 2 - reparador ou proliferação, caracterizado pela celularidade e produção de matriz,

(principalmente colágeno tipo III); 3 - remodelamento (consolidação e maturação), substituindo o colágeno tipo III por colágeno tipo I e permitindo a organização das fibras.

Uma análise utilizando o fator de transcrição RUNX1 contribuiu para a cicatrização do tendão através da produção de antígenos positivos CD44 e CD90, entretanto, houveram a produção de antígenos negativos tais como: CD34 e CD45. As BMSCs reguladas positivamente por RUNX1 elevaram a diminuição da força biomecânica dos enxertos de tendão, Kang *et al.* 2022, mostrou através do seu estudo que o RUNX1 facilita a capacidade de osteogênese em BMSCs, reprimindo a adipogênese através da via de sinalização Wnt/ β -catenina.

Apesar destas conclusões, outros artigos relataram um grande potencial e aptidão das células-tronco mesenquimais em suas pesquisas relativas à reconstrução do tendão. Selek *et al.* (2012) e Urdzikova *et al.* (2014) por exemplo, apresentaram êxito em relação às CTMs em suas respectivas investigações. Selek *et al.* avaliaram 40 ratos albinos Wistar onde de 6 foram retirados as células-tronco mesenquimais do fêmur e da tíbia, e nos restantes foram produzidos cortes no tendão de Aquiles. O grupo tratado com as CTMs aplicadas, nos resultados imuno-histoquímicos elas demonstraram-se significativamente presentes na zona de reparo da lesão, com efeito anti apoptótico e além disso, o aumento da força do tendão foi intensamente maior do que no grupo controle tratado apenas com soro fisiológico. Já Urdzikova *et al.* (2014) descreveu em seus resultados que mesmo após uma lesão tendínea induzida por colagenase em ratos, as células-tronco mesenquimais promoveram uma estrutura de matriz extracelular melhor e com a presença de colágeno tipo I e III, além da rigidez ser comprovadamente melhorada pós testes biomecânicos e a vascularização do tecido ser aumentada, processo que é importante para uma devida cicatrização.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo em questão, apresentou um quadro bastante animador quanto a utilização de MSCs dentro da metodologia apresentada pelos autores citados. Os artigos trouxeram múltiplas perspectivas acerca do uso das células-tronco mesenquimais, aplicando-as em diferentes contextos e com distintos fatores celulares, onde na maior parte de suas conclusões estas células se exibiram com grandes potencial e como protagonistas regenerativas em conjunturas de lesões tendíneas. Desse modo, são importantes estudos e experimentações mais complexas e duradouras promovidas pela comunidade científica, utilizando MSCs e as suas diferentes fontes alternativas, assim como revisões para compreender mais profundamente cada mecanismo de ação destas células e suas aplicabilidades práticas e clínicas na regeneração de tendões lesionados.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Agradecemos todo apoio da Universidade Federal Rural de Pernambuco e do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal.

REFERÊNCIAS

Aktas, E. et al. Immune modulation with primed mesenchymal stem cells delivered via biodegradable scaffold to repair an Achilles tendon segmental defect. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, v. 35, n. 2, p. 269–280, 2016.

Andarawis-Puri, N.; Flatow, E. L.; Soslowky, L. J. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, v. 33, n. 6, p. 780–784, 2015.

Chen, Y., Shao, J.-Z., Xiang, L.-X., Dong, X.-J., & Zhang, G.-R. (2008). Mesenchymal stem cells: a promising candidate in regenerative medicine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(5), 815–820. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.01.007>.

Gissi, C. et al. Extracellular vesicles from rat-bone-marrow mesenchymal stromal/stem cells improve tendon repair in rat Achilles tendon injury model in dose-dependent manner: A pilot study. *PloS one*, v. 15, n. 3, p. e0229914, 2020.

Jiang, D. et al. Combined effects of engineered tendon matrix and GDF-6 on bone marrow mesenchymal stem cell-based tendon regeneration. *Biotechnology letters*, v. 38, n. 5, p. 885–892, 2016.

Kang, K. et al. Upregulation of Runt related transcription factor 1 (RUNX1) contributes to tendon–bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction using bone mesenchymal stem cells. *Journal of orthopaedic surgery and research*, v. 17, n. 1, 2022.

Kraus, T. M. et al. Stem cells and basic fibroblast growth factor failed to improve tendon healing: An in vivo study using Lentiviral gene transfer in a rat model. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, v. 96, n. 9, p. 761–769, 2014.

Lee, J. Y. et al. BMP-12 treatment of adult mesenchymal stem cells in vitro augments tendon-like tissue formation and defect repair in vivo. *PloS one*, v. 6, n. 3, p. e17531, 2011.

Lui, P. P. Y.; Wong, O. T. Tendon stem cells: experimental and clinical perspectives in tendon and tendon-bone junction repair. *Muscles, ligaments and tendons journal*, v. 2, n. 3, p. 163–168, 2012.

Urdzikova, L., Sedlacek, R., Suchy, T. *et al.* Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. *BioMed Eng OnLine* 13, 42 (2014).

Monteiro, B. S.; ARGOLO NETO, N. M.; DEL CARLO, R. J. Células-tronco mesenquimais. *Ciencia rural*, v. 40, n. 1, p. 238–245, 2010.

Oliva, F. et al. Combined ascorbic acid and T3 produce better healing compared to bone marrow mesenchymal stem cells in an Achilles tendon injury rat model: a proof of concept study. *Journal of orthopaedic surgery and research*, v. 14, n. 1, 2019.

Pietschmann, M. F. et al. Comparison of tenocytes and mesenchymal stem cells seeded on biodegradable scaffolds in a full-size tendon defect model. *Journal of materials science. Materials in medicine*, v. 24, n. 1, p. 211–220, 2013.

Rui, Y. F. et al. Higher BMP receptor expression and BMP-2-induced osteogenic differentiation in tendon-derived stem cells compared with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. *International orthopaedics*, v. 36, n. 5, p. 1099–1107, 2012.

Selek, O. Mesenchymal stem cell application improves tendon healing via anti-apoptotic effect (Animal study). *Acta orthopaedica et traumatologica turcica*, v. 48, n. 2, p. 187–195, 2014.

Veronesi, F. et al. Mesenchymal stem cells for tendon healing: what is on the horizon?: Mesenchymal stem cells in acute and chronic tendon injuries. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, v. 11, n. 11, p. 3202–3219, 2017.

Wang, J. et al. Characterization and therapeutic applications of mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Tissue & cell*, v. 64, n. 101330, p. 101330, 2020.

Yin, Z. et al. Stepwise differentiation of mesenchymal stem cells augments tendon-like tissue formation and defect repair in vivo. *Stem cells translational medicine*, v. 5, n. 8, p. 1106–1116, 2016.

Zhang, B. et al. Construction of tendon replacement tissue based on collagen sponge and mesenchymal stem cells by coupled mechano-chemical induction and evaluation of its tendon repair abilities. *Acta biomaterialia*, v. 74, p. 247–259, 2018.