

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO DA
REGIÃO CENTRO-OESTE

BETHÂNIA BORGES TURA

MELHORA DA REGENERAÇÃO ÓSSEA E CARTILAGINOSA COM USO DE
CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM FRATURA ÓSSEA
OU OSTEOARTRITE

CAMPO GRANDE
2022

BETHÂNIA BORGES TURA

**MELHORA DA REGENERAÇÃO ÓSSEA E CARTILAGINOSA COM USO DE
CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM FRATURA ÓSSEA
OU OSTEOARTRITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Cultivo celular, terapia celular e engenharia tecidual.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira.

**CAMPO GRANDE
2022**

BETHÂNIA BORGES TURA

**MELHORA DA REGENERAÇÃO ÓSSEA E CARTILAGINOSA COM USO DE
CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM PACIENTES COM FRATURA ÓSSEA
OU OSTEOARTRITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Cultivo celular, terapia celular e engenharia tecidual.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira.

Banca examinadora:

Nota/conceito

Rodrigo Juliano Oliveira- UFMS

Antônio Carlos Duenhas Monreal- UFMS

Laynna De Carvalho Schweich Adami - Unigran

Wilson de Barros Cantero (Suplente)

Valter Aragão do Nascimento (Suplente)

AValiação FINAL: () Aprovado ()Aprovado com revisão () Reprovado

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus por nunca me abandonar nos momentos mais difíceis durante esses anos e sempre me dar forças para continuar com meus objetivos.

Ao meu orientador, professor Dr. Rodrigo, por ser mais que meu orientador, ser meu amigo, pai, irmão e sempre estar presente e me ajudar nos momentos mais difíceis da minha vida, palavras são poucas para expressar minha eterna gratidão.

À Dra. Andreia Antonioli, por cuidar sempre da minha saúde, por todo suporte que sempre me deu durante esses anos.

Ao meu marido Diego, por ser meu suporte durante esses 13 anos, por me amar, me incentivar a ser melhor e nunca largar minha mão nessa caminhada.

Aos meus pais, Maristela e Grimoaldo, minha irmã Marcela, minha sogra Valéria, pelas palavras de apoio, pelo amor e serem compreensivos nos momentos em que eu quis desistir.

Agradeço também à Roberta, por disponibilizar parte do seu tempo para me ensinar e me incentivar, sem ela a realização desse trabalho não seria possível.

À Silvia e a Thaís, por me ensinarem tudo o que sei sobre cultivo celular, pela paciência e pela amizade.

Aos profissionais da Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste (PPGSD) pela contribuição intelectual e pela disponibilidade de atender a demanda dos pós-graduandos quando necessário.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil, por mais uma vez me proporcionar a oportunidade de crescimento como profissional.

E por fim, obrigado a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro desta pesquisa.

RESUMO

A engenharia de tecidos é uma área que vem como alternativa para compensar a escassez de órgãos para transplante e as células-tronco mesenquimais vêm como alternativa para a reconstrução de novos tecidos. As células-tronco mesenquimais têm sido uma alternativa no processo de reparo de fraturas e na reconstrução da cartilagem articular. O objetivo deste trabalho é analisar a literatura e desenvolver uma revisão sistemática sobre o uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de pacientes que apresentaram fraturas ósseas ou osteoartrite. O protocolo de revisão sistemática foi planejado de acordo com o *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, a questão PICO a ser respondida: "Há melhora na regeneração óssea e cartilaginosa com o uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite?". As buscas foram realizadas nas seguintes bases de dados: US National Library of Medicine (Pubmed / MEDLINE), Excerpta Medica Database (EMBASE), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), BVS (LILACS) e Cochrane Controlled Trials Database. A triagem dos títulos e resumos foi realizada por dois pesquisadores e as discordâncias arbitradas por um terceiro avaliador. A pesquisa resultou em seis artigos e demonstrou que o uso de células-tronco mesenquimais são eficientes no reparo de fraturas e na regeneração da cartilagem em pacientes com osteoartrite. Porém, o número de estudos em humanos ainda é restrito. Assim, sugerimos a realização de mais estudos randomizados envolvendo um número maior de pacientes tratados e com acompanhamento a longo prazo.

Descritores: Terapia Celular; Célula-Tronco Mesenquimal; Consolidação da Fratura; Osteoartrite.

ABSTRACT

Tissue engineering is an area that comes as an alternative to compensate for the shortage of organs for transplantation and mesenchymal stem cells come as an alternative for the reconstruction of new tissues. Mesenchymal stem cells have been an alternative in the fracture repair process and in the reconstruction of articular cartilage. The objective of this work is to analyze the literature and develop a systematic review on the use of mesenchymal stem cells in the treatment of patients who presented bone fractures or osteoarthritis. The systematic review protocol was designed according to the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, the PICO question to be answered: "Is there improvement in bone and cartilage regeneration with the use of mesenchymal stem cells in patients with bone fracture or osteoarthritis? ". Searches were performed in the following databases: US National Library of Medicine (Pubmed / MEDLINE), Excerpta Medica Database (EMBASE), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), VHL (LILACS) and Cochrane Controlled Trials Database. The screening of titles and abstracts was performed by two researchers and disagreements were arbitrated by a third evaluator. The research resulted in six articles and demonstrated that the use of mesenchymal stem cells is efficient in fracture repair and cartilage regeneration in patients with osteoarthritis. However, the number of studies in humans is still limited. Therefore, we suggest conducting more randomized studies involving a larger number of treated patients with long-term follow-up.

Medical Subject Headings: Cell Therapy; Mesenchymal Stem Cells; Fracture Healing; Osteoarthritis

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 – Célula-tronco embrionária retirada da massa celular interna do blastocisto, capaz de se diferenciar em todos os tecidos	12
Figura 2 – Aplicação de CTM no reparo de tecidos	14
Figura 3 – Esquema da estrutura de um osso longo	16
Figura 4 – Esquema do processo de cicatrização da fratura. (A) representa a fratura e ruptura do perióstio. (B) Formação do hematoma, favorecendo a inflamação. (C) Fase inflamatória, secreção de moléculas pró-inflamatórias. (D) Fase fibrovascular, formação de novos vasos, e recrutamento de CTM. (E) Início da formação óssea a partir da ossificação endocondral e intramembranosa. (F) Reabsorção da matriz cartilaginosa pelos osteoclastos para formar a estrutura anatômica do osso.	18
Figura 5 – Fluxograma PRISMA	31
Figura 6 – Risco de viés de ensaios clínicos randomizados	35
Figura 7 – Risco de viés de estudos não-randomizados	36
Tabela 1 – Critérios de inclusão e exclusão aplicados na etapa de seleção	26/30
Tabela 2 – Resumo dos estudos incluídos.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE – Acidente vascular encefálico

CTM – Célula-tronco mesenquimal

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ELA - Esclerose lateral amiotrófica

IL – Interleucina

iPSC – Célula-tronco pluripotente induzida

OA – Osteoartrite

OL – Osso liofilizado

PHB – Poli (hidroxibutirato)

PICO – População (Participantes), Intervenção (ou Exposição, para estudos observacionais), Comparação e “Outcome” (desfechos clínicos, em português)

PLA – Poli (ácido láctico),

PLGA – Ácido co-glicólico polilático

PRP – Plasma rico em plaquetas

PVA – Álcool polivinílico

RNA – Ácido ribonucleico

TCE – Trauma crânio encefálico

TNF- α - Fator de necrose tumoral- α

β -TCP - Fosfato tricálcio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	Engenharia de tecidos	10
2.1.1	Polímeros naturais	10
2.1.2	Polímeros sintéticos	11
2.2	Células-tronco	12
2.3	Tecido ósseo	14
2.3.1	Fratura e regeneração óssea	16
2.4	Tecido Cartilaginoso	18
2.4.1	Osteoartrite	19
2.5	Células-tronco mesenquimais na regeneração da fratura óssea	20
2.6	Células-tronco mesenquimais na osteoartrite	22
3	OBJETIVO GERAL	24
3.1	Objetivo específico	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Estratégia de pesquisa de literatura e critérios de elegibilidade	25
4.2	Extração de dados	26
4.3	Avaliação da qualidade dos estudos incluídos	26
5	RESULTADO	27
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos é uma área que vem crescendo a cada ano e tem como objetivo a regeneração de novos tecidos a partir de suporte de biomateriais e fatores de crescimento utilizando células-tronco.

As células-tronco são células indiferenciadas que são capazes de se diferenciarem em diversas linhagens de células e tem a capacidade de se autorenovarem. Elas são classificadas como células-tronco embrionárias, pluripotentes induzidas e multipotentes (células-tronco mesenquimais).

As células-tronco mesenquimais são células adultas capazes de se diferenciarem em células especializadas, possuem capacidade anti-inflamatória, imunorregulatória e imunossupressora, são as células mais utilizadas na medicina regenerativa/engenharia de tecidos por serem encontradas em vários órgãos e tecidos.

Os tecidos mais estudados na engenharia de tecidos são os tecidos ósseo e cartilaginoso.

O processo de reparo ósseo é iniciado imediatamente após a lesão, a partir daí é iniciado uma série de mecanismos fisiológicos com o objetivo de substituir o tecido lesado por uma nova matriz óssea, porém, por diversos fatores, a regeneração pode ser incompleta ou ineficaz. As células-tronco vêm como uma alternativa para o tratamento de fraturas diminuindo o tempo de reparo da fratura e, conseqüentemente, diminuindo o impacto socioeconômico no sistema de saúde.

O tecido cartilaginoso tem a função de diminuir atrito e absorção de choque mecânico no osso condral. O desgaste da cartilagem articular leva à osteoartrite, que está associada a alterações no tecido ósseo. A osteoartrite é uma doença incapacitante, e o tratamento envolve controle da dor, mudanças no estilo de vida e procedimento cirúrgico. As células-tronco vêm com uma alternativa no tratamento da osteoartrite.

O presente estudo trata-se de uma revisão sistemática sobre o uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de pacientes que apresentaram fraturas ósseas ou osteoartrite e avaliar se as terapias foram eficazes no tratamento dessas doenças.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Engenharia de tecidos

O termo engenharia de tecidos surgiu há mais de 30 anos e consiste na regeneração de novos tecidos a partir do suporte de biomateriais e fatores de crescimento utilizando células (IKADA *et al.*, 2006). Um dos seus principais objetivos é melhorar, regenerar ou manter a função dos tecidos e órgãos (KHADEMHOSEINI *et al.*, 2016).

Segundo Khang (2006), a engenharia de tecidos veio como alternativa para compensar a escassez de órgãos para transplante além, da baixa biocompatibilidade entre o doador e receptor. Para reconstruir um tecido são necessárias células do tecido doador ou células-tronco e estruturas tridimensionais feitas de biomateriais (biocompatíveis). Esses biomateriais podem ser polímeros naturais ou sintéticos e são utilizados como suporte para as células, sendo em seguida transplantados para o tecido doente.

2.1.1 Polímeros naturais

Os polímeros naturais são divididos em três grupos: proteínas (como colágeno), polissacarídeos (alginato e ácido hialurônico) e polinucleotídeos (RNA e DNA, por exemplo). Estes são vantajosos devido seu alto grau de compatibilidade entre estruturas e tecidos. Os polímeros naturais mais utilizados são: alginato, colágeno, fibrina e ácido hialurônico (OZDIL *et al.*, 2014).

O alginato é um polissacarídeo derivado de algas e bactérias, muito utilizado na engenharia de tecidos, por ser biocompatível e biodegradável. É facilmente processado, podendo ser em forma de gel, microcápsulas, esferas, fibras, entre outras. Pode ser aplicado na cicatrização de feridas, regeneração óssea, reparo de cartilagem e entrega de drogas (SUN *et al.*, 2013).

O colágeno é a proteína mais abundante da matriz extracelular, sendo responsável por sua integridade biológica e estrutural. Possui estrutura porosa, baixa imunogenicidade, além de ser permeável, biocompatível e facilmente degradada pelo organismo, atuando na adesão, migração e diferenciação celular (DONG *et al.*, 2016).

A fibrina é resultado da conversão enzimática do fibrinogênio e catalisada pela trombina. É uma matriz provisória para o processo de cicatrização. A fibrina é biocompatível, reabsorvível e possui alto potencial para incorporar mediadores celulares (BARSOTTI *et al.*, 2011).

O ácido hialurônico é um glicosaminoglicano encontrado na matriz extracelular e está presente em todo o processo de cicatrização e reparo de feridas. Possui um papel importante na diferenciação e crescimento celular, sendo utilizado em forma aquosa ou em gel (COLLINS *et al.*, 2013).

O plasma rico em plaquetas é um concentrado de fatores de crescimento e proteínas naturais provenientes da centrifugação do sangue, quando o PRP é ativado por agentes fármacos, forma-se um polímero de fibrina e é conhecido como gel de plaquetas (SOUZA *et al.*, 2014).

2.1.2 Polímeros sintéticos

Segundo Ozdil *et al.* (2014), os polímeros sintéticos são alternativas econômicas e mais facilmente reproduzíveis que os polímeros naturais. Podem ser produzidos em larga escala, podendo ser adequados estruturalmente e quimicamente de acordo com o tecido onde será utilizado. Os mais utilizados são: álcool polivinílico (PVA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PLGA), poli (hidroxibutirato) (PHB).

O PVA é um polímero sintético, hidrofílico, biocompatível e biodegradável, não é mutagênico e nem genotóxico, o hidrogel de PVA é transparente e de consistência macia, possui grande resistência mecânica, poder de adesão em superfícies e flexibilidade, além disso, é produzido em larga escala no mundo (CARVALHO, 2014).

Outro polímero sintético é o PLA, obtido através da fermentação bacteriana de milho, arroz ou trigo, portanto obteve por meio de fontes renováveis (BIAGINI, 2021), é um polímero biodegradável e semicristalino, resistente à tração, ao impacto e à flexão, (BRAMBILLA, 2013).

O PLGA é um termoplástico com alta cristalinidade, facilmente degradável e de boa adesão celular (SADEGHI, 2016), além de ser não imunogênico, é obtido de fontes renováveis, pela fermentação do milho, por exemplo (KAPOOR *et al.*, 2015).

PHB é obtido através da fermentação anaeróbia de microorganismos, é um polímero semicristalino, resistente à tração e flexível (SOUSA, 2016), é o mais estudado e conhecido atualmente, as substâncias liberadas pelo PHB durante sua biodegradação são facilmente metabolizadas pelo organismo e, é capaz de promover o crescimento celular sendo uma ótima alternativa na engenharia de tecidos (DEGLI ESPOSTI *et al.*, 2019).

O β -TCP é um biomaterial com estrutura semelhante à do osso, é obtida através da junção de hidróxido de cálcio e ácido fosfórico, é muito utilizado em técnicas regenerativa para composição de uma nova matriz óssea (BATISTA *et al.*, 2019).

2.2 Células-tronco

Células-tronco são células indiferenciadas, capazes de se diferenciarem em diversas linhagens celulares e se autorenovarem. As células-tronco são classificadas como: totipotentes, pluripotentes (embrionárias), células pluripotentes induzidas e células multipotentes (SOLAIMAN, 2019).

As células-tronco totipotentes, são células capazes de formar qualquer célula ou tecido, incluindo tecidos embrionários e extraembrionários, como é o caso do zigoto (SCHWINDT et al., 2005).

As células-tronco embrionárias, são células com alto potencial proliferativo, podendo se diferenciar em todos os tipos de células e são originadas da massa interna do blastocisto (Figura). Apesar do seu potencial para regeneração de tecidos, existem muitas questões éticas em relação à utilização destas células em pesquisa e clinicamente (CZYZ *et al.*, 2003)

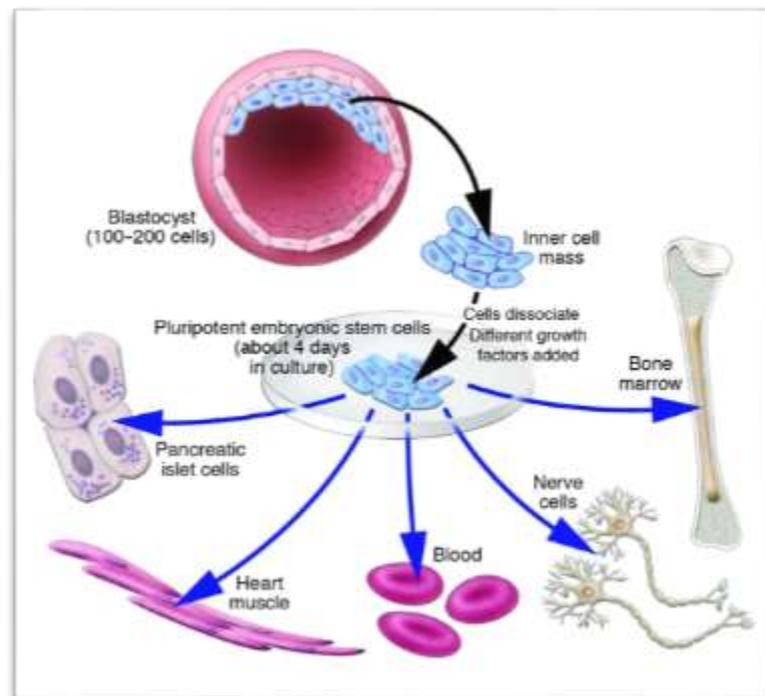


Figura 1 – Célula-tronco embrionária retirada da massa celular interna do blastocisto, capaz de se diferenciar em todos os tecidos (Fonte: FISCHBACH *et al.*, 2004)

As células-tronco pluripotentes induzidas, são derivadas de células-tronco mesenquimais e são reprogramadas por meio de genes específicos. Essas células possuem a mesma capacidade das células-tronco embrionárias, evitando as barreiras éticas e imunológicas (DOI *et al.*, 2009).

Segundo Kawamura *et al.* (2012), as primeiras células-tronco pluripotentes induzidas foram geradas a partir de fibroblastos de camundongos em 2006, e as humanas em 2007. Elas possuem potencial de diferenciação para dar origem a qualquer célula somática, mesmo perfil epigenético que as células-tronco embrionárias e expressão gênica equivalente.

As células-tronco mesenquimais, células multipotentes, foram descritas pela primeira vez por Friedenstein na década de 70 (SILVA, 2021). Já o termo célula-tronco mesenquimal (CTM) foi cunhado por Caplan no início da década de 90 (FUOCO *et al.*, 2016).

As CTMs são células adultas capazes de se diferenciarem em diversas células especializadas (HAN *et al.*, 2013) possuindo capacidade anti-inflamatória, imunorregulatória e imunossupressoras (HAN *et al.*, 2019). Elas secretam moléculas que promovem a angiogênese e regeneração tecidual, possuem efeitos neurogênicos e neuroprotetores (LINERO; CHAPARRO, 2014) e, devido à esse efeito parácrino, são muito utilizadas na medicina regenerativa/engenharia de tecidos por serem uma fonte natural, encontradas em vários órgãos e tecidos, com progressão contínua do ciclo celular e auto-renovação (HILFIKER *et al.*, 2011). Alguns exemplos de tecidos onde essas células podem ser extraídas são a medula óssea, tecido adiposo, cordão umbilical, polpa do dente e sinóvia (HAN *et al.*, 2019).

Uma das células-tronco mais estudadas são as CTM da medula óssea, estão localizadas na fração estromal da medula óssea que proporciona um ambiente favorável para o crescimento e diferenciação dessas células, porém, a quantidade de células nucleadas na medula adulta é cerca de 0,01% a 0,0001% (BYDLOWSKI *et al.*, 2009). Normalmente, a coleta dessas células é feita por punção na crista ilíaca, onde o paciente será submetido à uma pequena cirurgia sob anestesia geral, e será coletado um determinado volume de medula (REDOME, 2022).

Outra fonte comum de obtenção de CTM é tecido adiposo, pode ser coletada de forma menos invasiva e dolorosa se comparada às CTMs da medula óssea, o material é retirado por meio de lipoaspiração normalmente da região do abdome superior, flancos e nádegas e possui uma maior quantidade de CTM por quantidade de tecido manipulado (SCHWEICH ADAMI, 2021).

Um dos critérios utilizado para identificar uma CTM é por meio da diferenciação destas células em protocolos de osteogênese, condrogênese e adipogênese (LIN *et al.*, 2019). Segundo Pesarini *et al.* (2017, 2018) para realizar a diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica, as células são semeadas em placas de cultivo, sendo necessário aguardar adesão das mesmas. O cultivo é realizado em meios de cultura específicos para diferenciação,

processo que dura em média 14 dias para as diferenciações osteogênica e adipogênica e 21 dias para condrogênica.

Além da diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica, outro critério para caracterizar uma célula em CTM é por meio da expressão de alguns marcadores, elas precisam expressar CD105, CD73 e CD90 e não expressam CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e HLA-DR; outros antígenos de superfície geralmente expressos pelas CTMs são: CD13, CD29, CD44 e CD1 (LV, et al., 2014).

Muitas são as aplicações das CTM. **A Erro! Fonte de referência não encontrada.** ostra alguns exemplos de órgãos e tecidos nos quais são utilizados CTM no reparo e/ou tratamento de doenças.

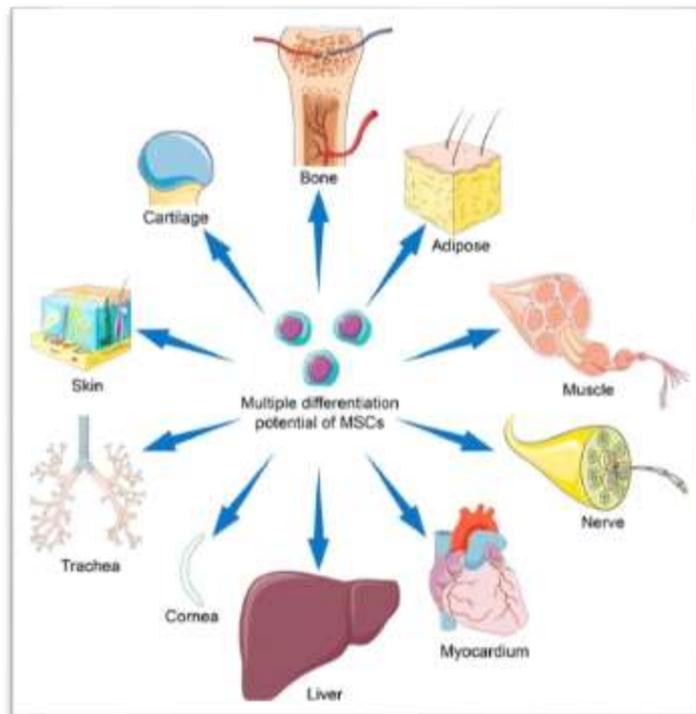


Figura 2 – Aplicação de CTM no reparo de tecidos (Fonte: Han et al., 2019)

2.3 Tecido ósseo

O osso é um tipo de tecido conjuntivo composto por osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, e suas principais funções são: proteção de tecidos moles e medula óssea, locomoção, suporte e armazenamento de cálcio (FLORENCIO-SILVA *et al.*, 2015).

Osteoblastos são células cuboidais derivadas de células-tronco mesenquimais, cuja principal função é sintetizar e secretar matriz óssea, promovendo a formação, remodelação e cicatrização óssea (HENRY *et al.*, 2021).

Derivadas dos osteoblastos, os osteócitos são células altamente especializadas responsáveis pela manutenção da matriz óssea e por manter a biomineralização. Atuam também como o principal metabolizador do fosfato (NAHIAN; ALESSA, 2021).

Os osteoclastos são células responsáveis pelo metabolismo e renovação óssea e atuam durante o processo de reabsorção óssea. São eles os responsáveis por manter o osso forte e saudável, além de manter os níveis normais de cálcio no plasma (KHAN *et al.*, 2021).

Macroscopicamente, o tecido ósseo pode ser classificado como compacto ou cortical e, esponjoso ou trabecular. Na parte interna, o osso é revestido pelo endóstio e na parte externa pelo perióstio (ANDIA *et al.*, 2006).

O perióstio é constituído de uma camada externa e uma camada interna. A camada externa é constituída basicamente de tecido conjuntivo. A camada interna é constituída por células osteoprogenitoras semelhantes a fibroblastos (células-tronco multipotentes) e osteoblastos (LIN *et al.*, 2016).

O endóstio é a membrana que reveste a superfície interna do osso, tem função de proteção da medula óssea, nervos e vasos sanguíneos, é responsável por estimular a reabsorção óssea, desempenhando papel fundamental no desenvolvimento do osso (NAHIAN; CHAUHAN, 2021).

O osso cortical ou compacto é encontrado principalmente nas extremidades de ossos longos ou curtos, corresponde cerca de 80% da massa óssea, é pouco poroso, porém sua porosidade pode aumentar de acordo com a idade e/ou alterações osteoporóticas. O osso compacto também é encontrado ao redor do osso esponjoso das vértebras, crista íliaca e crânio. Sua função é promover suporte e proteção (OTT, 2018).

O osso esponjoso ou trabecular corresponde de 25-30% do volume do tecido, sendo encontrado nas metáfises de ossos longos, vértebras, costelas e crista íliaca. Sua principal função é aliviar tensão mecânica no osso cortical (BURR, 2019).

A Figura 3 mostra um esquema da estrutura de um osso longo e seus principais componentes.

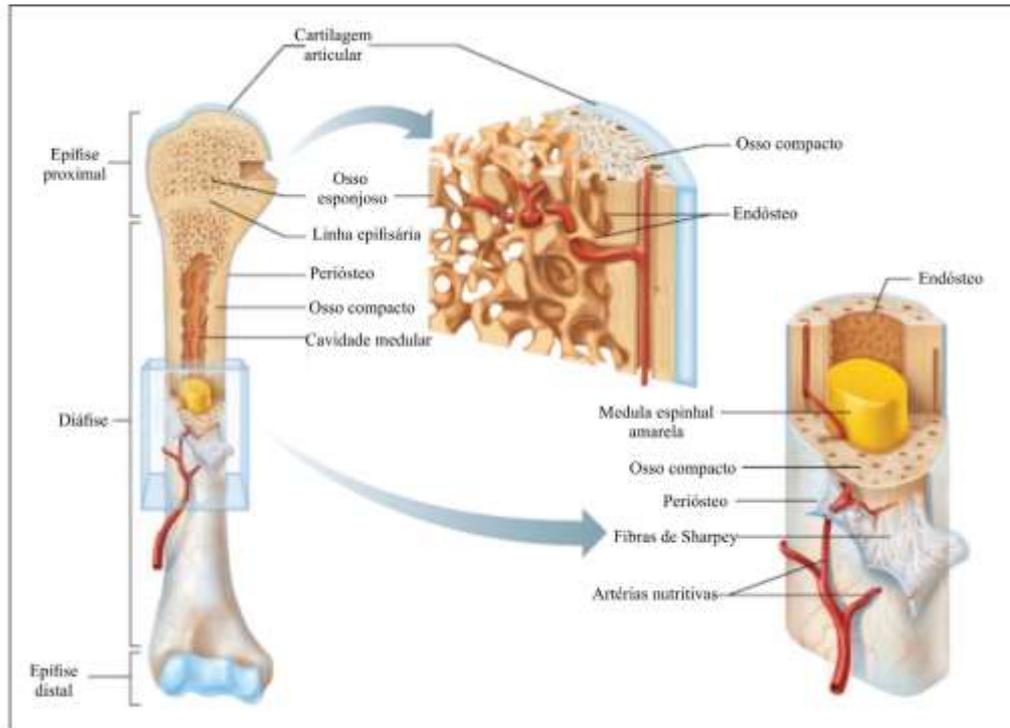


Figura 3 - Esquema da estrutura de um osso longo adaptado de Marieb, Wilhelm e Mallatt (2012)

2.3.1 Fratura e regeneração óssea

O processo de reparo ósseo é iniciado após a ocorrência de uma lesão no osso que pode se dar por trauma, tumor, infecção ou falta de suprimento sanguíneo. A partir daí é iniciada uma série de mecanismos fisiológicos com o intuito de substituir o osso lesado por uma nova matriz óssea (SATHYENDRA; DAROWISH, 2013).

A cicatrização das fraturas normalmente ocorre com a combinação da ossificação intramembranosa e endocondral. A formação óssea endocondral começa na parte externa ao periosteio, em regiões que são mecanicamente menos estáveis. Interno ao periosteio acontece a ossificação intramembranosa, onde ocorre a formação do calo duro, fornecendo estabilização inicial e recuperação da biomecânica (FAZZALARI, 2011).

Inicialmente após o trauma é gerado um hematoma que consiste em células sanguíneas periféricas e medular. Essa lesão inicia um processo inflamatório necessário para a cicatrização (inflamação aguda), isso faz com que o hematoma coagule ao redor da fratura e da medula que forma um molde para a formação de calo ósseo. Esse processo ocorre entre 24 horas a sete dias. Nesse processo ocorre a secreção de moléculas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-11 e IL-18. Essas moléculas são responsáveis pela angiogênese (MARCEL; EINHORN, 2011).

O TNF- α é expresso por macrófagos que removem as células necróticas e a matriz provisória de fibrina por fagocitose. Os osteoclastos reabsorvem os fragmentos de ossos

necróticos do osso fraturado. Além disso, os macrófagos irão secretar as ILs que iniciam o recrutamento de fibroblastos e células-tronco mesenquimais, após aproximadamente 7 dias, o hematoma e a resposta inflamatória aguda é finalizado, e, substituído por tecido de granulação rico em CTM incorporada à uma matriz de colágeno extracelular desorganizada (LOI et al., 2016).

A fase anteriormente mencionada é conhecida como fase fibrovascular, sendo definida pela remodelação vascular e a diferenciação das células-tronco em condrócitos e osteoblastos para regenerar o osso fraturado. A maioria das CTMs recrutadas, provenientes do perióstio e da medula óssea, são reguladas pela citocina CXCL12 ou fator 1 derivado de célula do estroma (SDF1). A partir daí inicia o processo de formação óssea (BAHNEY *et al.*, 2019).

Segundo Sathyendra e Darowish (2013), as células-tronco irão se diferenciar em condrócitos, dando início a fase de calo mole. Após a fase inflamatória, ocorre um aumento da tensão no centro da fratura, não ocorre a formação de novos vasos, e conseqüentemente reduz-se a oxigenação o que favorecendo a formação de cartilagem. A isquemia no local desencadeia a liberação de fatores de diferenciação de crescimento (TGF- β 2, TGF- β 3, GDF-5) promovendo a diferenciação de CTM em condrócitos. Os condrócitos se proliferam enchendo a lacuna da fratura, aumentando a estabilidade mecânica e com isso, os condrócitos sofrem diferenciação hipertrófica, permitindo a neovascularização. Macrófagos e osteoclastos são direcionados para o calo mole e removem a cartilagem, aumentando a produção de BMP-3, BMP-4, BMP-7 e BMP-8, moléculas responsáveis para recrutar osteoblastos. Inicia-se a fase de calo duro, ocorre a remoção da cartilagem e os condrócitos sofrem apoptose, ao mesmo tempo os osteoblastos iniciam a formação de um calo ósseo nas regiões periféricas. Para que o osso atinja sua forma anatômica correta, IL-1 e IL-6 aumentam e a atividade osteoblástica é aumentada para que o calo duro seja substituído por osso lamelar. Essa fase pode durar anos e ela é considerada completa quando há formação da cavidade medular.

A figura 4 mostra de forma resumida o processo de cicatrização de uma fratura.

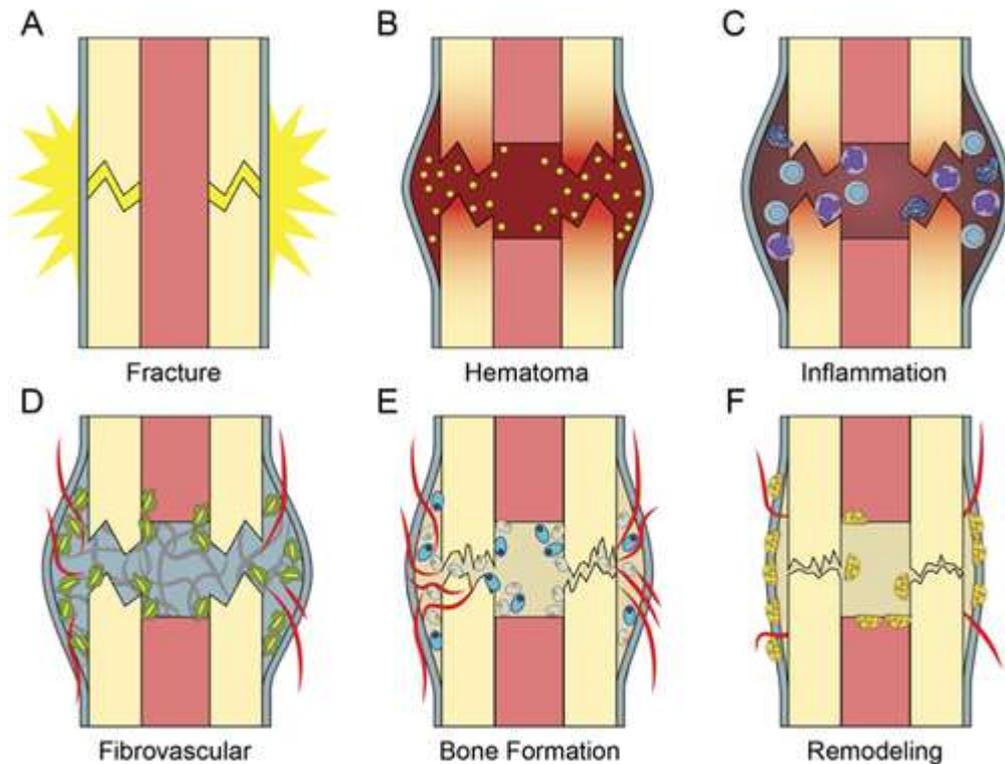


Figura 4 – Esquema do processo de cicatrização da fratura. (A) representa a fratura e ruptura do periósteo. (B) Formação do hematoma, favorecendo a inflamação. (C) Fase inflamatória, secreção de moléculas pró-inflamatórias. (D) Fase fibrovascular, formação de novos vasos, e recrutamento de CTM. (E) Início da formação óssea a partir da ossificação endocondral e intramembranosa. (F) Reabsorção da matriz cartilaginosa pelos osteoclastos para formar a estrutura anatômica do osso. (Adaptado: BAHNEY *et al.*, 2019)

2.4 Tecido Cartilaginoso

O tecido cartilaginoso é um tipo especializado de tecido conjuntivo. Está localizado nas extremidades ósseas e sua função é diminuir o atrito, absorção de choque mecânico no osso subcondral e fazer a acomodação de cargas visto que ele é plástico e possui alta capacidade de carga (CHEN *et al.*, 2013). Este tecido é composto por condrócitos e material extracelular (colágeno, elastina, ácido hialurônico, dentre outras glicoproteínas).

Existem três tipos de cartilagens: cartilagem hialina, mais comum no organismo, constituída de colágeno tipo II; cartilagem elástica, que contém fibras elásticas e colágeno tipo II; e cartilagem fibrosa, constituída predominantemente por colágeno tipo I (JUNQUEIRA, 2018).

Segundo Montanari (2016), a cartilagem é formada a partir da diferenciação de células-tronco mesenquimais em condroblastos que ao realizarem a divisão celular secretam matriz cartilaginosa e quando diminuem sua síntese passam a ser chamados de condrócitos. Os condrócitos começam se afastar assim que a matriz cartilaginosa é depositada, formando assim a cartilagem, todo esse processo de diferenciação é desencadeado pela expressão do gene SOX-9.

O tecido cartilaginoso é nutrido pelos capilares presentes no pericôndrio. Porém, articulações móveis não têm pericôndrio. A nutrição nesses casos é realizada pelo líquido sinovial e pelo osso subcondral (CRUZ et al., 2017).

O líquido sinovial é um infiltrado de plasma produzido pela membrana sinovial, cuja função é nutrição, suporte mecânico, absorção de impacto e lubrificação. Ele possui coloração clara e é composto por ácido hialurônico, eletrólitos, proteínas e enzimas (MARTINS et al., 2007).

Ao contrário do tecido ósseo, a cartilagem hialina não obedece às mesmas fases de reparo, devido à baixa vascularização e oxigenação, e dificuldade de locomoção dos condrócitos ao local da lesão. Este tecido não consegue organizar suas fibras de forma bem definida. Portanto, formam um tecido fibroso inferior à cartilagem sadia. As lesões no tecido cartilaginoso podem causar osteoartrite (SCHWEICH ADAMI, 2021).

2.4.1 Osteoartrite

A osteoartrite é uma doença degenerativa que afeta a cartilagem articular associada a alterações no tecido ósseo (SINUSA, 2012). É uma doença que envolve toda a estrutura articular, acarretada por perda gradual da cartilagem articular, esclerose óssea subcondral, osteófitos nas margens articulares e inflamação do líquido sinovial. Não deve ser considerada apenas uma doença degenerativa, mas também como uma remodelação anormal dos tecidos cartilaginoso e ósseo, impulsionada por mediadores inflamatórios (RANNOU, 2014).

Os genes expressos nesse processo são óxido nítrico sintase (NOS) -2, ciclooxigenase (COX) -2 e várias metaloproteinases de matriz (MMPs), incluindo MMP-13, e uma desintegrina e metaloproteinase (ADAM) com domínios de trombospondina-1 (ADAMTS). A ativação desses genes pode causar mudança fenotípica, apoptose e expressão aberrante de genes que estão relacionados à inflamação (GOLDRING;OTERO, 2011).

Segundo Rannou (2014), os condrócitos não conseguem manter o equilíbrio entre a síntese e a degradação da matriz extracelular. Logo, os mediadores inflamatórios (IL-1) e o estresse mecânico fazem com que os condrócitos produzam menos colágeno, proteoglicanos menores, enzimas mais degradativas e muitos mediadores inflamatórios, causando um ciclo vicioso, levando à perda da cartilagem.

Segundo Kellgren e Lawrence (1957), a osteoartrite pode ser classificada em vários níveis de acordo com a gravidade da doença:

0- Nenhuma anormalidade

- 1- A formação de osteófitos na articulação margens ou, no caso da articulação do joelho, as espinhas tibiais.
- 2- Ossículos periarticulares; estes foram encontrados principalmente em relação às articulações interfalângicas distais e proximais.
- 3- Estreitamento da cartilagem articular associado à esclerose do osso subcondral.
- 4- Pequenas áreas pseudocísticas com paredes escleróticas situadas geralmente no osso subcondral.

Um dos sintomas mais comuns da osteoartrite é a dor crônica. A dor é causada pela presença de aminoácidos excitatórios (EAA) que são liberados pelos neurônios sensoriais na medula espinhal. Outro sintoma bastante presente é a rigidez articular, causada pela redução do fosfolipídio tensoativo (surfactante sinovial) que é responsável pela lubrificação da articulação e redução do atrito. Sintomas como fraqueza muscular, edema e redução da amplitude de movimento também são observados (ASHKAVAND, 2013).

A osteoartrite é uma doença multifatorial, podendo ser causada pelo envelhecimento, fatores genéticos, alterações hormonais, alterações e/ou sobrecarga mecânica e síndrome metabólica (HERRERO-BEAUMONT, 2017).

O tratamento conservador consiste em controle da dor, mudança no estilo de vida e procedimento cirúrgico com substituição da articulação, é uma doença comum e muitas vezes incapacitante, além de ser considerada um problema de saúde pública e estima-se que cerca de 250 milhões de pessoas sejam afetadas. As articulações mais afetadas são quadril, joelho e mão (GLYN-JONES, 2015).

Em países desenvolvidos o custo com cirurgias de prótese de quadril e joelho representam 1-2,5% do produto interno bruto, sem contar os custos indiretos com aposentadoria precoce (HUNTER; BIERMA-ZEINSTR, 2019).

2.5 Células-tronco mesenquimais na regeneração da fratura óssea

Uma fratura não consolidada é um desafio para muitos cirurgiões e principalmente para o sistema de saúde, a células-tronco vêm como alternativa de tratamento para proporcionar maior satisfação do paciente e minimizar os custos associados aos cuidados de saúde e socioeconômicos (FAYAZ et al., 2011).

Zhang et al. (2015) avaliou o potencial de biomateriais osteocondutores na consolidação de fraturas ósseas, o estudo foi realizados em um modelo de fratura femoral de camundongos. As CTMs foram cultivadas em nanopartículas de prata e em seguidas

colocada num gel de colágeno, esse gel contendo as nanopartículas de prata e CTM foi transferido para o local da fratura. A eutanásia dos animais ocorreu 21 dias após a cirurgia. A análise histológica demonstrou que as nanopartículas de prata promoveram a migração das células para o local da fratura, além disso induziu a diferenciação osteogênica e promoveu a cicatrização da fratura.

Em um estudo usando ratos *Wistar* utilizou um meio condicionado com gel de agarose contendo CTM, dois defeitos ósseos de 5 milímetros foram realizados na parte frontal do crânio dos ratos e em seguida colocado o gel de agarose contendo CTM. Após 8 semanas, a análise histológica não demonstrou resposta inflamatória, no grupo contendo CTM o osso estava praticamente regenerado e o gel de agarose havia sido totalmente absorvido, o que não aconteceu no grupo controle onde só havia gel de agarose (OSUGI et al., 2012).

Outro experimento envolvendo CTM foi realizado para o reparo de defeitos ósseos na mandíbula de cães, As células foram entregues em andaimes de fosfato β -tricálcico (β -TCP) revestidos com microesferas de ácido co-glicólico polilático (PLGA) que liberam gradualmente o fator de crescimento endotelial vascular, a análise histológica foi realizada após 8 semana da implantação e demonstrou maior formação óssea em relação ao grupo controle que não foi tratado com CTM, não observou-se nenhuma resposta inflamatória. O presente estudo também mostrou-se eficaz no tratamento de fraturas (KHOJASTEH et al., 2017).

Já no estudo de Chu et al. (2019) realizado em humanos, também avaliou a eficiência de CTM e β -TCP no reparo de fraturas de platô-tibial. O estudo contou com dois grupos, no grupo 1 o defeito foi preenchido com CTM/ β -TCP e no grupo 2 apenas com β -TCP. Os resultados foram avaliados através de exame de imagem e demonstrou que a proporção de osso novo nos pacientes tratados com CTM/ β -TCP foi significativamente maior do que nos tratados apenas com β -TCP, além disso os pacientes tratados com CTM tiveram melhor recuperação funcional em relação aos pacientes não tratados.

O objetivo principal da utilização de CTM em fraturas é reduzir o tempo de regeneração e aumentar a qualidade óssea, CASTILLO-CARDIEL et al. (2017) utilizou CTM em fraturas mandibulares. Neste estudo, foram selecionados 20 pacientes, 10 pacientes realizaram redução da fratura com aplicação de CTM e 10 apenas redução. Os pacientes foram avaliados na 4° e 12°. Na 4° os resultados dos dois grupos em relação à ossificação foram semelhantes, porém, na 12° o grupo CTM apresentou taxa de 36,48%

maior que no grupo em que foi realizado apenas a redução da fratura. Além disso, o pacientes do grupo CTM relataram redução da dor e retorno precoce às atividades diárias.

Por fim, para avaliar a cicatrização de uma osteotomia tibial, Dallari et al. (2007) comparou o potencial osteogênico de chips de ossos liofilizados combinados com gel de plaquetas (grupo A), gel de plaquetas e CTM (grupo B) e apenas chips de ossos liofilizados (grupo C). Os pacientes foram avaliados seis semanas, dozes semanas, seis meses e um ano após a cirurgia. As análises mostraram aumento dos osteoblastos, revascularização e aumento da osseointegração nos grupos A e B em apenas 6 semanas. Após um ano, a osseointegração permaneceu mais eficiente os grupos A e B, porém, todos os grupos apresentaram cura completa da lesão e melhora clínica e funcional.

2.6 Células-tronco mesenquimais na osteoartrite

A cartilagem articular possui dificuldade em se reparar devido à falta de vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, devido à isso, as células-tronco vêm com uma alternativa no campo da engenharia de tecido e medicina regenerativa para o reparo da articulação (WANG et al., 2017).

Um experimento realizado em um modelo de osteoartrite em camundongos, injetou CTM derivadas do tecido adiposo na articulação do joelho 7 dias após a indução da osteoartrite. Observou-se que após 42 dias da injeção o espessamento do revestimento sinovial e a formação de calcificações ósseas na articulação foram inibidos, mostrando a eficiência da injeção de CTM na fase inicial de osteoartrite (TER HUURNE et al, 2012).

SINGH et al. (2014) por sua vez utilizando um modelo de osteoartrite em coelhos injetou CTM doze semanas após o procedimento cirúrgico de indução da osteoartrite, os coelhos que receberam o a injeção de CTM apresentaram um menor grau de degeneração articular, osteófitos e esclerose subcondral do que no grupo controle.

Um estudo comparativo em seres humanos avaliou a regeneração da cartilagem articular em pacientes com lesão condral submetidos à artroscopia através da injeção intra-articular de ácido hialurônico com e sem CTM, os pacientes receberam uma injeção por semana durante cinco semanas, três injeções adicionais foram aplicadas semanalmente após seis meses do procedimento cirúrgico. Em nenhum dos grupos observou eventos adversos, o grupo que recebeu CTM apresentou melhora da qualidade no reparo da cartilagem em relação ao grupo controle.

Vega et al. (2015) selecionou 30 pacientes com dor crônica de joelho e que não responderam ao tratamento convencional, foram divididos em dois grupos, onde um grupo recebeu injeção intra-articular de CTM e o outro grupo recebeu injeção de ácido hialurônico, os resultados clínicos foram acompanhados por um ano e o grupo que recebeu CTM apresentou melhora funcional, redução da dor e melhoria da qualidade da cartilagem funcional quando comparados ao grupo que recebeu apenas ácido hialurônico.

SCHWEICH-ADAMI et al. (2021) em seu relato de caso aplicando CTM na osteoartrite de joelho refratária ao tratamento convencional também mostrou que além de reduzir o quadro algico do paciente, facilitando o retorno às atividades de vida diária, a aplicação de CTM reduziu os marcadores inflamatórios que são causados pela doença.

Num estudo envolvendo osteoartrite de tornozelo, Kim e Koh (2016) compararam os resultados clínicos de pacientes submetidos à artroscopia com e sem injeção de CTM. Eles observaram que os pacientes que receberam a injeção de CTM relataram melhora da dor, melhora funcional, além disso, retorno às atividades de vida diária precocemente.

Os estudos mostram que o uso de CTM pode ser uma alternativa válida para o tratamento da osteoartrite aguda e crônica.

3 OBJETIVO GERAL

Analisar a literatura e desenvolver uma revisão sistemática sobre o uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de pacientes que apresentaram fraturas ósseas ou osteoartrite.

3.1 Objetivo específico

Avaliar a melhora da regeneração óssea e cartilaginosa com uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea e osteoartrite, respectivamente, por meio de uma revisão sistemática da literatura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de revisão sistemática foi planejado de acordo com o *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (HIGGINS *et al.*, 2019), conforme aplicável, e registrado no PROSPERO (CRD42020166788). Este relatório foi escrito seguindo a lista de verificação PRISMA-P13 (MOHER *et al.*, 2015).

A questão PICO respondida foi: “Há melhora na regeneração óssea e cartilaginosa com o uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite?”.

4.1 Estratégia de pesquisa de literatura e critérios de elegibilidade

As buscas foram realizadas entre os anos de 2005 e 2020, nas seguintes bases de dados: *US National Library of Medicine* (Pubmed / MEDLINE), *Excerpta Medica Database* (EMBASE), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), BVS (LILACS) e *Cochrane Controlled Trials Database*. Também foi realizada uma busca direta na bibliografia de todos os artigos revisados e no site de periódicos científicos relacionados às células-tronco (*Stem cells, Cell Stem Cell, Nature, The Lancet*).

Para a busca na base de dados, foi usada uma combinação de termos MESH (Osteoarthritis; Fractures; Bone; Mesenchymal Stem Cells; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Bone regeneration; Bone Remodeling Osseointegration) e sinônimos relacionados à pergunta PICO associados aos Operadores Booleanos (AND, OR, NOT). *Software* como *Yale Mesh Analyzer, PubReMiner* e *Systematic Review Accelerator* foram utilizados para auxiliar na escolha dos termos.

A triagem dos títulos e resumos foi realizada por dois pesquisadores (B.B.T e H.C.O) por meio do *software Rayyan QCRI*. As discordâncias foram arbitradas por um terceiro investigador (R.S.R). Após a triagem, todos os artigos incluídos foram analisados na íntegra em relação aos critérios de inclusão e exclusão por dois autores (B.B.T e H.C.O) (Tabela 21). Havendo divergências, as mesmas foram resolvidas pelo parecer do terceiro autor (R.S.R).

Tabela 1 – Critérios de inclusão e exclusão aplicados na etapa de seleção

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Estudos em humanos	Estudos com testes <i>in vitro</i> e / ou animais
Estudos que avaliaram o uso de células-tronco mesenquimais para regeneração óssea na população-alvo	Estudos sem resultados completos
Estudos de ensaios clínicos randomizados, ensaios não randomizados e estudos observacionais	Relato de caso, revisão sistemática e estudos de meta-análise
Artigos em inglês, português e espanhol	Artigos com idiomas diferentes do inglês, português e espanhol
Estudos com resultados completos	

4.2 Extração de dados

A extração dos dados foi realizada em planilha Excel. Para cada estudo foram extraídos os seguintes dados: (1) título da publicação; (2) nome do primeiro autor; (3) ano de publicação; (4) desenho do estudo; (5) critérios de inclusão do estudo; (6) critérios de exclusão do estudo; (7) idade média dos pacientes; (8) número de pacientes; (9) quantidade de células administrada; (10) local de extração celular; (11) tipo de lesão; (12) tempo de reparo no controle / tratamento; (13) avaliação histomorfológica; (14) densidade óssea no controle / tratamento; (15) tipo de aplicação de células-tronco; (16) menção de quaisquer fatores de confusão em potencial ou outras fontes de viés.

4.3 Avaliação da qualidade dos estudos incluídos

A avaliação da qualidade do estudo foi realizada por dois autores independentes (B.B.T e R.S.R) e qualquer discordância foi resolvida por consenso. O risco de viés de ensaios clínicos randomizados foi avaliado usando a ferramenta *Cochrane Risk of Bias* (RoB 2.0) (HIGGINS *et al.*, 2019b) e a ferramenta *Assessing Risk of Bias in a Non-randomized Study* (ROBINS-I) (STERNE *et al.*, 2016) foi usada para estudos observacionais e testes clínicos não randomizados.

5 RESULTADO

Os resultados serão apresentados em forma de artigo.

Melhora da regeneração óssea e cartilaginosa com uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite: revisão sistemática

Bethânia Borges Tura^{1,2}, Roberta Schroder Rocha³, Hudman Cunha Ortiz^{1,2}, Diego Duarte Marques de Oliveira^{1,2}, Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli da Silva^{1,2}, Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2,4}

¹Centro de Estudos em Células-Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica – CeTroGen, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian – HUMAP, Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – EBSEH, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta – FAMED, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia Celular, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil

⁴Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Centro de Ciências Biológicas – CCB, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Paraná, Brasil.

Resumo

A engenharia de tecidos é uma área que vem como alternativa para compensar a escassez de órgãos para transplante e as células-tronco mesenquimais vêm como alternativa para a reconstrução de novos tecidos. As células-tronco mesenquimais têm sido uma alternativa no processo de reparo de fraturas e na reconstrução da cartilagem articular. O objetivo deste trabalho é analisar a literatura e desenvolver uma revisão sistemática sobre o uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de pacientes que apresentaram fraturas ósseas ou osteoartrite. O protocolo de revisão sistemática foi planejado de acordo com o *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, a questão PICO a ser respondida: "Há melhora na regeneração óssea e cartilaginosa com o uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite?". As buscas foram realizadas

nas seguintes bases de dados: US National Library of Medicine (Pubmed / MEDLINE), Excerpta Medica Database (EMBASE), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), BVS (LILACS) e Cochrane Controlled Trials Database. A triagem dos títulos e resumos foi realizada por dois pesquisadores e as discordâncias arbitradas por um terceiro avaliador. A pesquisa resultou em seis artigos e demonstrou que o uso de células-tronco mesenquimais é eficiente no reparo de fraturas e na regeneração da cartilagem em pacientes com osteoartrite. Porém, o número de estudos em humanos ainda é restrito. Assim, sugerimos a realização de mais estudos randomizados envolvendo um número maior de pacientes tratados e com acompanhamento a longo prazo.

Palavras-chave: Terapia Celular; Célula-Tronco Mesenquimal; Consolidação da Fratura; Osteoartrite.

Introdução

A engenharia de tecidos consiste no desenvolvimento de técnicas capazes de substituir e/ou regenerar tecidos lesados, por trauma, doença ou senescência, mantendo sua função original (ATALA, 2012). Para atingir esses objetivos a engenharia de tecidos utiliza biomateriais com estrutura tridimensional, fatores de crescimento e células autólogas, alongênicas ou xenogênicas (PINTO, 2020).

Um tipo de célula autóloga muito utilizada na engenharia de tecidos são as células-tronco que são células não especializadas capazes de se renovarem. Estas podem ser embrionárias (pluripotentes), induzidas (pluripotentes) e somáticas (multipotentes) (PRASONGCHEAN; FERRETTI, 2012).

A células-tronco multipotentes ou também conhecidas como mesenquimais, são capazes de se dividir e produzir diferentes tipos de células, dentre elas, osteócitos, condrócitos e adipócitos. Podem ser isoladas e diferenciadas em cultura *in vitro* (CAPLAN, 2017) e originadas da medula óssea, periósteo, músculo, sinóvia, cordão umbilical e do tecido adiposo, por exemplo (YANG, 2018).

Devido à essa capacidade de se diferenciar em diferentes tecidos, as células-tronco mesenquimais são utilizadas no tratamento de diversas doenças como as cardiovasculares, autoimunes, renais, hepáticas, pulmonares, cartilagosas, dentre outras (SQUILLARO; PELUSO; GALDERISI, 2016).

Um tecido bastante estudado é o tecido ósseo. O osso é um tecido capaz de se regenerar completamente. Durante o processo de reparo ósseo, células-tronco são recrutadas e

se diferenciam em condroblastos ou precursores de osteoblastos (SHAO; ZHANG; YANG, 2015). No caso de uma fratura, o processo de cicatrização é longo, muitas vezes as fraturas não são consolidadas ou então demoram mais que o normal para consolidar (YADOLLAHPOUR; RASHIDI, 2014). Assim, as técnicas cirúrgicas são necessárias.

Células-troncos mesenquimais também são capazes de se diferenciarem em cartilagem, podendo ser utilizadas no tratamento da osteoartrite. Osteoartrite consiste na degeneração articular associada às lesões ósseas. Não existe uma terapia eficaz no tratamento da osteoartrite. Logo, as células-tronco são estudadas como alternativa para o tratamento dessa doença (KONG; ZHENG; QIN; HO, 2017).

Deste modo, esta revisão sistemática tem como objetivo avaliar os benefícios do uso de células-tronco mesenquimal no tratamento de pacientes com fraturas ósseas ou osteoartrite.

Material e métodos

O protocolo de revisão sistemática foi planejado de acordo com o *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (HIGGINS *et al.*, 2019), conforme aplicável, e registrado no PROSPERO (CRD42020166788). Este relatório foi escrito seguindo a lista de verificação PRISMA-P13 (MOHER *et al.*, 2015).

A questão PICO respondida foi: “Há melhora na regeneração óssea e cartilaginosa com o uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite?”.

Estratégia de pesquisa de literatura e critérios de elegibilidade

As buscas foram realizadas entre os anos de 2005 e 2020, nas seguintes bases de dados: *US National Library of Medicine* (Pubmed / MEDLINE), *Excerpta Medica Database* (EMBASE), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), BVS (LILACS) e *Cochrane Controlled Trials Database*. Também foi realizada uma busca direta na bibliografia de todos os artigos revisados e no site de periódicos científicos relacionados às células-tronco (*Stem cells, Cell Stem Cell, Nature, The Lancet*).

Para a busca na base de dados, foi usada uma combinação de termos MESH (Osteoarthritis; Fractures; Bone; Mesenchymal Stem Cells; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Bone regeneration; Bone Remodeling Osseointegration) e sinônimos relacionados à pergunta PICO associados aos Operadores Booleanos (AND, OR, NOT). *Software* como *Yale Mesh Analyzer, PubReMiner* e *Systematic Review Accelerator* foram utilizados para auxiliar na escolha dos termos.

A triagem dos títulos e resumos foi realizada por dois pesquisadores (B.B.T e H.C.O) por meio do *software Rayyan QCRI*. As discordâncias foram arbitradas por um terceiro investigador (R.S.R). Após a triagem, todos os artigos incluídos foram analisados na íntegra em relação aos critérios de inclusão e exclusão por dois autores (B.B.T e H.C.O) (Tabela 21). Havendo divergências, as mesmas foram resolvidas pelo parecer do terceiro autor (R.S.R).

Tabela 2 – Critérios de inclusão e exclusão aplicados na etapa de seleção

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Estudos em humanos	Estudos com testes <i>in vitro</i> e / ou animais
Estudos que avaliaram o uso de células-tronco mesenquimais para regeneração óssea na população-alvo	Estudos sem resultados completos
Estudos de ensaios clínicos randomizados, ensaios não randomizados e estudos observacionais	Relato de caso, revisão sistemática e estudos de meta-análise
Artigos em inglês, português e espanhol	Artigos com idiomas diferentes do inglês, português e espanhol
Estudos com resultados completos	

Extração de dados

A extração dos dados foi realizada em planilha Excel. Para cada estudo foram extraídos os seguintes dados: (1) título da publicação; (2) nome do primeiro autor; (3) ano de publicação; (4) desenho do estudo; (5) critérios de inclusão do estudo; (6) critérios de exclusão do estudo; (7) idade média dos pacientes; (8) número de pacientes; (9) quantidade de células administrada; (10) local de extração celular; (11) tipo de lesão; (12) tempo de reparo no controle / tratamento; (13) avaliação histomorfológica; (14) densidade óssea no controle / tratamento; (15) tipo de aplicação de células-tronco; (16) menção de quaisquer fatores de confusão em potencial ou outras fontes de viés.

Avaliação da qualidade dos estudos incluídos

A avaliação da qualidade do estudo foi realizada por dois autores independentes (B.B.T e R.S.R) e qualquer discordância foi resolvida por consenso. O risco de viés de

ensaios clínicos randomizados foi avaliado usando a ferramenta *Cochrane Risk of Bias* (RoB 2.0) (HIGGINS *et al.*, 2019b) e a ferramenta *Assessing Risk of Bias in a Non-randomized Study* (ROBINS-I) (STERNE *et al.*, 2016) foi usada para estudos observacionais e testes clínicos não randomizados.

Resultados

Características dos estudos incluídos

Um fluxograma detalhado dos estudos incluídos é mostrado na Figura 5. Um total de 1180 artigos foram encontrados. Dos artigos encontrados, 203 eram duplicados e foram excluídos, restando 977 artigos para leitura dos títulos e resumos. Dezesesseis estudos foram lidos na íntegra e analisados em relação aos critérios de inclusão e exclusão. Seis estudos foram incluídos na revisão sistemática por preencher todos os requisitos. Os outros dez artigos foram excluídos por delineamento, tipos de intervenção e população diferentes.

Em relação ao desenho do estudo, dois estudos foram ensaios clínicos randomizado e quatro não-randomizado.

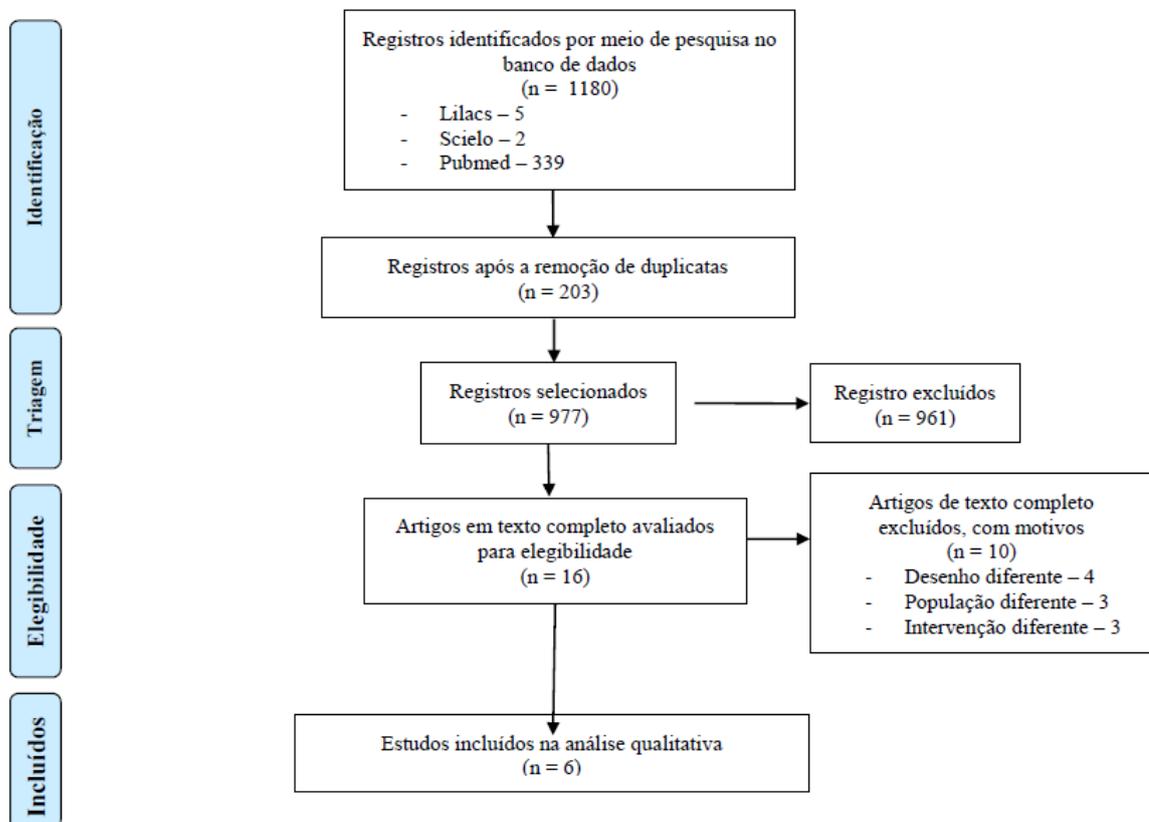


Figura 5 – Fluxograma PRISMA

Tabela 2 – Resumo dos estudos incluídos.

Autor (ano)	Tamanho da amostra (pacientes)	Idade média dos pacientes	Tipo de lesão	Local de extração celular	Quantidade de células	Melhora da regeneração?	Avaliação histomorfológica/imaginológica	Avaliação clínica
Dallari et al. (2007)	33	Grupo OL + PRP (A): 46,6±4,3 Grupo OL + PRP + CTM (B): 52,6±3,4 Grupo OL (C): 54,7±2,7	Osteoartrite de joelho	Medula óssea	5,91 x 10 ⁴ ± 2,2	Sim	Ausência de infecção em todos os grupos. Em 6 semanas, grupo OL + PRP: extensa formação óssea em todo o defeito. Grupo OL + PRP + CTM: remodelação óssea mais ativa em comparação ao A, formação de novos vasos sanguíneos e quantidade discreta de osso maduro. Grupo OL: apresentou tecido fibroso	Ausência de infecção, melhora da dor, locomoção e da amplitude de movimento em todos os grupos
JO et al. (2014)	18	Baixa dose: 63±8,6 Média dose: 65±6,6 Alta dose: 61±6,2	Osteoartrite de joelho	Tecido adiposo	Baixa dose: 1,0 x 10 ⁷ Média dose: 5,0 x 10 ⁷ Alta dose: 1,0 x 10 ⁸	Sim	Antes da injeção de CTM, a biopsia mostrou que não havia cartilagem articular, 6 meses após a injeção, no grupo alta dose, a cartilagem estava bem regenerada e integrada ao osso subcondral, houve redução do tamanho do defeito na cartilagem, não foram observadas mudanças significativas nos grupos baixa e média dose	Redução da dor e melhora da funcionalidade em pacientes tratados com alta dose, não houve diferenças significativas nos grupos baixa e média dose
Kim et al. (2016)	49	Grupo Controle: 54,3±4,8 Grupo CTM: 53,6±5,6	Osteoartrite na articulação do tornozelo	Tecido adiposo	4,5x10 ⁷	Sim	Melhora da regeneração da cartilagem no grupo CTM em relação ao grupo Controle	Melhora funcional e da dor no grupo CTM em relação ao grupo Controle
Granchi et al. (2017)	26	β-TCP+CTM: 39,6±14	Fratura de ossos longos	Medula óssea	2,0 x 10 ⁸	Sim	Cicatrização óssea satisfatória em 23 dos 24 pacientes, 9 pacientes classificados como consolidação antecipada	Não informado
Chu et al. (2019)	49	Grupo CTM/β-TCP: 56,1±12 Grupo β-TCP: 57±17,3	Fratura de platô tibial	Medula óssea	1,32 x 10 ⁴ ± 0,43	Sim	Grupo CTM/ β-TCP: degradação do enxerto e uma nova formação óssea após 18 meses. Cicatrização completa da fratura em 9,3±3,2 semanas Grupo β-TCP: enxerto não foi degradado, cicatrização completa em 10,3±2,6.	Nenhum paciente do Grupo CTM/ β-TCP apresentou dor, infecção, hematoma ou outras complicações Um paciente do grupo β-TCP apresentou infecção da ferida resolvido após 6 semanas.
Castillo-Cardiel et al. (2019)	20	Grupo CTM: 31,2±6,3 Grupo Controle: 29,7±7,2	Fratura de côndilo mandibular	Tecido adiposo	1,0 x 10 ⁷ a 6,0 x 10 ⁸	Sim	Após 12 semanas de aplicação o grupo que recebeu CTM mostrou uma taxa de ossificação 36,48% maior que no grupo controle. Um paciente do grupo CTM apresentou infecção sendo tratada em 1 semana não acarretando prejuízos na osseointegração.	Grupo CTM apresentou menos dor e retornaram às atividades de vida diária mais rápido em relação ao controle.

O estudo de Dallari et al. (2007) envolveu 33 pacientes que foram submetidos a uma osteotomia tibial alta para genu varo e osteoartrite, os pacientes foram divididos em três grupos, no grupo A foram utilizados fragmentos de osso liofilizado (OL) com plasma rico em plaquetas (PRP) com idade média de $46,6 \pm 4,3$ anos, no grupo B, osso liofilizado, plasma rico em plaquetas e células-tronco mesenquimais com pacientes de $52,6 \pm 3,4$ e, no grupo C, apenas osso liofilizado, com idade média de $54,7 \pm 2,7$. As células-tronco utilizadas foram extraídas da medula óssea da crista ilíaca e foi utilizado uma quantidade de $5,91 \times 10^4 \pm 2,2$ células. Os pacientes foram avaliados clinicamente e por radiografia nas semanas seis e dozes, seis meses e um ano após a cirurgia. Seis semanas após a cirurgia foi realizada biópsia para análise histológica. As análises clínicas mostraram que todos os pacientes, independente do grupo, tiveram melhora da dor, capacidade de locomoção e da amplitude de movimento. A análise radiográfica mostrou que o processo de osseointegração melhorou significativamente nos grupos A e B em comparação ao grupo C ($p < 0,005$ e $p < 0,0001$, respectivamente). Grupo A apresentou uma taxa de integração do enxerto de 30% a 50% ($p < 0,0003$ em comparação com os controles) e nove joelhos do Grupo B tiveram uma taxa de integração de 50% a 80% ($p < 0,0001$ em comparação com os controles). Além disso, o processo de osseointegração foi mais rápido no Grupo B do que no Grupo A ($p < 0,05$), mostrando que no grupo que utilizou CTM o processo de osseointegração foi mais eficaz.

JO et al. (2014) em seu estudo com 18 pacientes com osteoartrite de joelho, testou diferentes doses de células-tronco mesenquimais do tecido adiposo. Os grupos consistiam em: baixa dose: $1,0 \times 10^7$ com idade média dos pacientes $63 \pm 8,6$ anos; média dose: $5,0 \times 10^7$ com idade média $65 \pm 6,6$; e, alta dose: $1,0 \times 10^8$ com idade média de $61 \pm 6,2$ anos. Os pacientes foram avaliados durante seis meses pelos achados clínicos, radiológicos, artroscópicos e histológicos. Clinicamente, os pacientes que receberam baixa e média doses não obtiveram melhora. Na escala de dor os pacientes que receberam alta dose apresentaram uma redução de 45% da dor ($p < 0,001$). Em relação aos achados radiológicos, a largura do espaço articular, o eixo mecânico e o eixo anatômico não mudaram significativamente ao longo de 6 meses em todos os grupos de dosagem. O tamanho do defeito da cartilagem diminuiu significativamente tanto nos côndilos femoral medial e tibial, quanto nos côndilos femoral lateral e tibial em 6 meses no grupo de alta dose. O volume da cartilagem também aumentou gradualmente ao longo do tempo até 6 meses nos côndilos femoral medial e tibial no grupo de alta dose.

Kim et al. (2016) num estudo envolvendo 49 pacientes com osteoartrite de tornozelo, injetou $4,5 \times 10^7$ de células-tronco do tecido adiposo na cartilagem articular. Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo controle com idade média de $54,3 \pm 4,8$ anos; e, Grupo

CTM com idade média de $53,6 \pm 5,6$ anos; e, os dois grupos foram submetidos à osteotomia de deslizamento lateral do calcâneo. Todos pacientes foram avaliados clinicamente e por radiografia. O grupo que foi tratado com injeção de CTM apresentou melhor funcional e dar com relação ao grupo controle, além disso, melhora da regeneração da cartilagem. Essas descobertas sugerem que as melhorias foram principalmente devido à injeção adicional de CTMs e, portanto, apoiam a hipótese de que a injeção concomitante de CTM fornece benefícios adicionais na cicatrização da cartilagem e nos resultados clínicos.

O estudo de Granchi et al. (2017) analisou 26 pacientes afetados pela não união ou união retardada de ossos longos com idades entre 18 e 65 anos. A abordagem regenerativa consistiu em administrar $2,0 \times 10^8$ de células-tronco da medula óssea com β -TCP. A progressão da consolidação óssea foi avaliada 6, 12 e 24 semanas após o implante. Uma cicatrização óssea satisfatória foi obtida em 23 dos 24 pacientes, enquanto um paciente sem uma cicatrização completa foi classificado como uma "falha" na semana 24. Nove indivíduos alcançaram uma boa consolidação já na semana 12, e eles foram considerados como "consolidação antecipada".

Chu et al. (2019) selecionou 39 pacientes com fratura de platô tibial, divididos em dois grupos, CTM+ β -TCP e β -TCP sozinho. O grupo CTM+ β -TCP foi composto por 16 pacientes com idade média de $56,1 \pm 12$ anos e o grupo β -TCP com 23 pacientes com idade média de $57,0 \pm 17,3$ anos. As CTM utilizadas foram extraídas da crista ilíaca e foram utilizada $1,32 \times 10^4 \pm 0,43$ células. Os pacientes forma acompanhados por aproximadamente 30 meses, e as radiografias realizadas em 1 semana após o procedimento cirúrgico e depois a cada 2-4 semanas por 4 meses. Nenhum paciente apresentou dor clinicamente significativa durante a cura da fratura e a recuperação foi satisfatória. As análises radiográficas mostrou que o CTM+ β -TCP implantado na área de enxerto ósseo se degradou 18 meses após a cirurgia e a densidade do osso novo era semelhante à do osso normal circundante, o que não ocorreu no grupo tratado com β -TCP apenas. A cicatrização da fratura foi considerada completa em $9,3 \pm 3,2$ semanas em pacientes tratados com CTM+ β -TCP e em $10,3 \pm 2,6$ semanas apenas naqueles com β -TCP poroso ($t = -1,188$; $p > 0,05$). Aos 2 anos, a superfície articular na área do defeito foi deslocada em $0,4 \pm 0,7$ mm em pacientes tratados com CTM/ β -TCP e em $0,5 \pm 0,7$ mm em pacientes tratados apenas com β -TCP poroso.

Castillo-Cardiel et al. (2019) selecionou 49 pacientes com fratura de côndilo mandibular. Os pacientes foram divididos em dois grupos. O grupo CTM, que consistia em redução da fratura e injeção de células-tronco mesenquimais provenientes do tecido adiposo, os pacientes deste grupo tinham idade média de $31,2 \pm 6,3$ e o grupo controle onde foi

realizada apenas a redução da fratura, os pacientes tinham idade média de $29,7 \pm 7,2$ anos. A quantidade de CTM aplicada foi $1,0 \times 10^7$ a $6,0 \times 10^8$. Os pacientes foram avaliados por exames de imagem nas semanas 4 e 12. Os resultados mostraram que o grupo controle não atingiu qualidade óssea semelhante ao osso normal em nenhuma das duas semanas. Em contrapartida, o grupo CTM apresentou após 12 semanas de aplicação uma taxa de ossificação 36,48% maior que no grupo controle. Um paciente do grupo CTM apresentou infecção sendo tratada em 1 semana não acarretando prejuízos na osseointegração. Clinicamente, os pacientes tratados com CTM retornaram às atividades de vida diária mais rápido em relação ao controle.

A revisão sistemática analisou 6 estudos com 195 pacientes e avaliou a melhora da regeneração óssea e cartilaginosa com uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea e osteoartrite.

Qualidade dos estudos incluídos

Duas escalas de qualidade foram utilizadas para avaliar os estudos. A qualidade dos ensaios clínicos randomizados está na Figura 6 e a qualidade dos estudos não-randomizados na Figura 7.

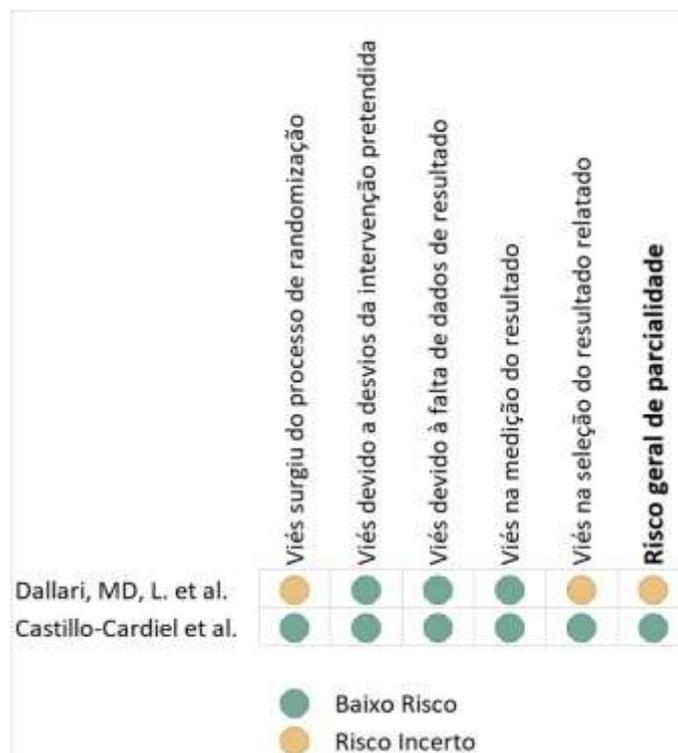


Figura 6– Risco de viés de ensaios clínicos randomizados

A avaliação do risco de viés e feito através de uma ferramenta da Cochrane baseada em uma avaliação crítica para diferentes aspectos. Não caso do estudo de Dallari et al. (2007) não foi informado se a sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções. Também não foi informado no artigo se os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise. Esses dois fatores deram a classificação de risco incerto nos quesitos: Viés no processo de randomização e Viés na seleção do resultado relatado

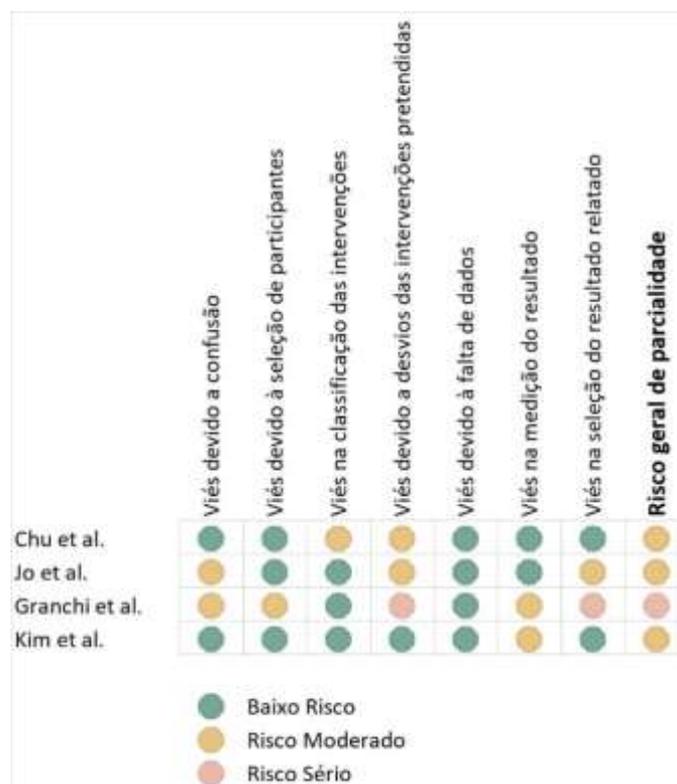


Figura 7 – Risco de viés de estudos não-randomizados

Nos estudos observacionais não existe controle das variáveis e confundidores, portanto, os pesquisadores ficam limitados à observação dos dados e suas características, devido à isso, os estudos observacionais apresentam maior risco de viés.

Discussão

O desenvolvimento de novas estratégias para promover a regeneração óssea e cartilaginosa é de interesse clínico. Nessa linha, esta revisão sistemática fornece evidências do potencial regenerativo das CTM no reparo de fraturas e no tratamento da osteoartrite.

Apesar do número crescente de estudo sobre este tema, estudos com humanos ainda são restritos, o número de pacientes tratados é limitado e existe um grande risco de viés em relação aos achados clínicos. Um exemplo de viés que se destaca é relativo à avaliação da dor por meio de escalas analógicas. Sabe-se que a percepção da dor é subjetiva e pode ser influenciada por situações externas e/ou psicológicas (SILVA; RIBEIRO, 2011). Vieses também podem ocorrer para se atender aos preceitos éticos. Em estudos que envolvem transplante de CTM não é possível efetuar a coleta do material biológico de pacientes que não receberam as células. Logo, não é possível fazer um estudo com delineamento cego, pois para a extração de CTM é preciso assinar um termo de consentimento e, portanto, o paciente saberá que ele necessariamente será submetido ao transplante. Por outro lado, os que não assinam o termo não são submetidos à coleta e, por consequência, ao transplante.

Apesar das dificuldades relatadas, a revisão sistemática evidenciou, por meio de achados histomorfológicos, que os grupos tratados com CTM tiveram desfecho favorável devido ao aumento da osseointegração e consolidação óssea, em menor prazo no caso de fraturas; e regeneração da cartilagem em pacientes com osteoartrite. Todos os pacientes tratados ou não com CTM apresentaram melhora clínica e funcional, retornando às atividades de vida diária. Porém, os pacientes tratados com CTM obtiveram melhora precoce em relação aos não tratados.

A fonte de obtenção de CTM mais descrita na literatura é a medula óssea, rica em células clonogênicas presentes no estroma medular. Uma outra fonte que se destaca é o tecido adiposo. Na presente revisão essas duas fontes apresentaram o mesmo destaque visto que 50% dos artigos usaram cada uma delas. Porém, a CTM de origem do tecido adiposo podem ser mais interessantes clinicamente se considerado que a sua obtenção é menos agressiva (punção da crista ilíaca *versus* mini lipoaspiração), apresenta menores riscos aos pacientes (visto que os transplantes são autólogos), a recuperação é mais rápida e, portanto, há menor morbidade. Além disso, as células derivadas do tecido adiposo têm potencial proliferativo de oito a dez passagens, além da ausência de rejeição imunológica como também acontece com CTM de outras fontes (ZUTTON *et al.*, 2013).

Não existe um consenso sobre a quantidade de células a serem usadas. Apenas um estudo analisou três quantidades diferentes de células para o transplante (JO et al., 2014). Os resultados desse estudo demonstrou que apenas a maior dose ($1,0 \times 10^8$) foi efetiva em levar à regeneração da cartilagem e redução do defeito. Porém, outros estudos relatados, que utilizaram quantidades menores de CTM, também obtiveram desfechos favoráveis quando comparados os grupos transplantados com o controle (DALLARI et al., 2007; CHU et al., 2019). Outro fato que merece atenção é que há estudos que relatam efetividade do tratamento mesmo quando são transplantados um número bem pequeno de CTM na ordem de 10^3 células. Essas quantidades tão díspares, num futuro próximo, vão requerer que estudos e sociedades pensem num processo de padronização de prescrição.

Os artigos revisados não possuem consenso sobre o melhor método de entrega de CTM. Observou-se que para os dois estudos de osteoartrite a via de administração foi injeção intra-articular (CASTILLO-CARDIE et al., 2019; KIM et al., 2016). Já nos casos de fraturas observou-se que as CTM foram transplantadas por injeção (CASTILLO-CARDIEL et al., 2019) ou em associação com o suporte. Assim, as CTM foram ancoradas em PRP associado a osso liofilizado ou osso liofilizado isoladamente (DALLARI et al., 2007) ou β -TCP (CHU et al., 2019; GRANCHI et al., 2017)

É importante ressaltar que a terapia celular com CTM não se associou a nenhum efeito adverso grave. Esse fato demonstra que o método é seguro e de baixo risco. Porém, estudos com maior n amostral precisam ser conduzidos e os pacientes devem ser acompanhados ao longo de muitos anos para se confirmar a segurança da terapia a longo prazo.

Destaca-se ainda que a osteoartrite, é uma doença que afeta principalmente mulheres (ITO et al., 2019), idosos, obesos, hipertensos, diabéticos (LEITE et al., 2011) e também atletas de alto rendimento devido ao impacto repetido na articulação por um longo período de tempo (GOUTTEBARGE et al., 2015). Assim, será necessário também realizar estudos para populações específica a fim de se estabelecer quais delas são realmente candidatas à terapia celular e quais delas irão melhor se beneficiar dessa terapêutica inovadora.

Com relação à qualidade dos artigos incluídos na revisão sistemática observou-se alto risco de viés nos estudos não-randomizados e observacionais. Esse fato já era esperado visto que nos estudos observacionais não existe controle das variáveis e confundidores (ARONSON et al., 2018). Já em relação aos estudos randomizados foi observado uma melhor qualidade. No entanto, um dos estudos apresentou risco incerto. O risco incerto não necessariamente indica que o estudo não teve qualidade. Nesse caso pode ter ocorrido falhas

no relato/descrição e esse fato derivou na classificação de risco incerto. Portanto, esta revisão sistemática deve ser avaliada com cautela.

Conclusão

Esta revisão sistemática avaliou 6 estudos com 195 pacientes e demonstrou que o uso de células-tronco mesenquimais é eficiente no reparo de fraturas e na regeneração da cartilagem em pacientes com osteoartrite. Porém, o número de estudos em humanos ainda é restrito. Assim, sugerimos a realização de mais estudos randomizados envolvendo um número maior de pacientes tratados e com acompanhamento a longo prazo. Além disso, recomendamos que as autoridades da área iniciem uma discussão acerca da padronização do número de células-tronco mesenquimais a serem prescritas para as diferentes necessidades clínicas. Será importante num futuro próximo termos metas de quantidades de células para o tratamento de osteoartrite, por exemplo, e para fraturas ósseas sendo para essas consideradas as extensões das lesões. Outro fato a ser discutido são as formas de entregas das CTM e se essas serão utilizadas isoladamente e/ou em associação com suportes.

REFERÊNCIAS

ARONSON J. K. et al., Catalogue of bias collaboration. **Confounding. In Catalogue of Biases**. 2018. www.catalogueofbiases.org/biases/confounding

ATALA, Anthony. Regenerative medicine strategies. **Journal Of Pediatric Surgery**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 17-28, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2011.10.013>.

CAPLAN, Arnold I. Mesenchymal Stem Cells: time to change the name!. **Stem Cells Translational Medicine**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 1445-1451, 28 abr. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/sctm.17-0051>.

CASTILLO-CARDIEL, Guadalupe *et al.* Bone regeneration in mandibular fractures after the application of autologous mesenchymal stem cells, a randomized clinical trial. **Dental Traumatology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 38-44, 13 set. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/edt.12303>

CHU, Wenxiang *et al.* Screen-enrich-combine circulating system to prepare MSC/ β -TCP for bone repair in fractures with depressed tibial plateau. **Regenerative Medicine**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 555-569, jun. 2019. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/rme-2018-0047>.

DALLARI, D. *et al.* Enhanced Tibial Osteotomy Healing with Use of Bone Grafts Supplemented with Platelet Gel or Platelet Gel and Bone Marrow Stromal Cells. **The Journal Of Bone & Joint Surgery**, [S.L.], v. 89, n. 11, p. 2413-2420, nov. 2007. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.2106/jbjs.f.01026>

GOUTTEBARGE, V. et al. Prevalence of osteoarthritis in former elite athletes: a systematic overview of the recent literature. **Rheumatology International**, v. 35, n. 3, p. 405–418, 1 mar. 2015.

HIGGINS, J. P. T. *et al.* Revised Cochran risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2). **Cochrane** 1–24, 2019b.

HIGGINS, Julian. P. T. *et al.* Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. **John Wiley & Sons**, 2019a.

ITO, C. B. et al. CAUSAS, CONSEQUÊNCIAS E TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE DO JOELHO E QUADRIL: REVISÃO SISTEMÁTICA. **Arquivos do Mudi**, v. 23, n. 3, p. 455–466, 20 dez. 2019.

JO, Chris Hyunchul *et al.* Intra-Articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: a proof-of-concept clinical trial. **Stem Cells**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 1254-1266, 17 abr. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/stem.1634>.

KIM, Yong Sang *et al.* Injection of Mesenchymal Stem Cells as a Supplementary Strategy of Marrow Stimulation Improves Cartilage Regeneration After Lateral Sliding Calcaneal Osteotomy for Varus Ankle Osteoarthritis: clinical and second-look arthroscopic results. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 878-889, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arthro.2016.01.020>.

KONG, Ling; ZHENG, Li-Zhen; QIN, Ling; HO, Kevin K.W.. Role of mesenchymal stem cells in osteoarthritis treatment. **Journal Of Orthopaedic Translation**, [S.L.], v. 9, p. 89-103, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jot.2017.03.006>.

LEITE, A. A. et al. Comorbidades em pacientes com osteoartrite: frequência e impacto na dor e na função física. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, p. 118–123, abr. 2011.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst. Rev.* 4, 1 (2015)

PINTO, Pedro Monteiro Marques Moreira. **Medicina Regenerativa: Potencial das células-tronco pulpares na regeneração de tecidos**. 2020. 41 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária, Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto, Porto, 2020. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/127953/2/409919.pdf>.

PRASONGCHEAN, Weerapong; FERRETTI, Patrizia. Autologous stem cells for personalised medicine. **New Biotechnology**, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 641-650, set. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2012.04.002>.

SHAO, Jin; ZHANG, Weiwei; YANG, Tieyi. Using mesenchymal stem cells as a therapy for bone regeneration and repairing. **Biological Research**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 1-7, 3 nov. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40659-015-0053-4>.

SILVA, J. A. DA; RIBEIRO-FILHO, N. P. Avaliação psicofísica da percepção de dor. **Psicologia USP**, v. 22, p. 223–263, 2011.

SQUILLARO, Tiziana; PELUSO, Gianfranco; GALDERISI, Umberto. Clinical Trials with Mesenchymal Stem Cells: an update. **Cell Transplantation**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 829-848, maio 2016. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.3727/096368915x689622>.

STERNE, J. A. *et al.* Risk Of Bias In Non-randomized Studies of Interventions (ROBINS-I): detailed guidance. **BMJ** 1–53 (2016).

YADOLLAHPOUR, Ali; RASHIDI, Samaneh. A Review of Electromagnetic Field Based Treatments for Different Bone Fractures. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 611-620, 30 set. 2014. Oriental Scientific Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/1313>.

YANG, Yueh-Hsun Kevin. Aging of mesenchymal stem cells: implication in regenerative medicine. **Regenerative Therapy**, [S.L.], v. 9, p. 120-122, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reth.2018.09.002>.

ZUTTON, M. S. S. R. et al. Células-tronco de tecido adiposo e a importância da padronização de um modelo animal para experimentação pré-clínica. **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, v. 21, n. 3, p. 281–287, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O uso de células-tronco mesenquimais é eficiente no reparo de fraturas e na regeneração da cartilagem em pacientes com osteoartrite.
- O número de estudos em humanos ainda é restrito.
- Sugerimos realização de mais estudos randomizados envolvendo um número maior de pacientes tratados e com acompanhamento a longo prazo.
- Recomendamos que as autoridades da área iniciem uma discussão acerca da padronização do número de células-tronco mesenquimais a serem prescritas para as diferentes necessidades clínicas.
- Será importante num futuro próximo termos metas de quantidades de células para o tratamento de osteoartrite,
- Estabelecer melhores formas de entregas das CTM e se essas serão utilizadas isoladamente e/ou em associação com suportes.

REFERÊNCIAS

- ANDIA, Denise C., *et al.* Bone tissue: morphological and histophysiological aspects. *Rev. odontologia. UNESP*, vol.35, n2, p.191-198, 2006
- ASHKAVAND, Zahra; *et al.* The pathophysiology of osteoarthritis. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 1, p. 132–138, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0974694313000534>>.
- BAHNEY, Chelsea S. *et al.* Cellular biology of fracture healing. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 37, n. 1, p. 35–50, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jor.24170>>.
- BARSOZZI, Maria Chiara *et al.* Fibrin as a scaffold for cardiac tissue engineering. **Biotechnology And Applied Biochemistry**, [S.L.], v. 58, n. 5, p. 301-310, set. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bab.49>
- BATISTA, T. C. S. P. *et al.* Síntese e estudo de hidroxapatita e beta fosfato tricálcico para uso biomédico. In: Franciele Bonatto; Jair de Oliveira; João Dallamuta (Eds.). **Ciência, Tecnologia e Inovação**. 1. ed. [s.l.] Antonella Carvalho de Oliveira, 2019. p. 200–212.
- BIAGINI, Giuliana. **ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE CÉLULAS-TRONCO E CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS EM ARCABOUÇOS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) (PLA) PARA APLICAÇÕES NA ENGENHARIA DE TECIDOS**. 2021. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Biociências e Biotecnologia, Instituto Carlos Chagas, Curitiba, 2021.
- BRAMBILLA, Vanessa Cristina. **AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS, TÉRMICAS, MORFOLÓGICAS E DEGRADAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO)/BURITI**. 2013. 163 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos e Tecnologias, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2013
- BURR, David B.. Bone Morphology and Organization. In: BURR, David B.; ALLEN, Matthew R.. **Basic and Applied Bone Biology**. 2. ed. Indianapolis: Academic Press, 2019. Cap. 1. p. 3-26.
- BYDŁOWSKI, S. P. *et al.* Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 25–35, maio 2009.
- CARVALHO, Sandhra Maria de. **Desenvolvimento e avaliação "In vitro" de membranas compósitas de quitosana, álcool polivinílico, polietileno glicol e policaprolactona triol com adição de nanopartículas de vidro bioativo para regeneração periodontal**. 2014. 154 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica, Ufmg, Belo Horizonte, 2014.
- CASTILLO-CARDIEL, G. *et al.* Bone regeneration in mandibular fractures after the application of autologous mesenchymal stem cells, a randomized clinical trial. **Dental Traumatology: Official Publication of International Association for Dental Traumatology**, v. 33, n. 1, p. 38–44, fev. 2017.
- CHEN, C. *et al.* Biomechanical properties and mechanobiology of the articular chondrocyte. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 305, n. 12, p. C1202-C1208, 2013.
- CHU, W. *et al.* Screen-enrich-combine circulating system to prepare MSC/β-TCP for bone repair in fractures with depressed tibial plateau. **Regenerative Medicine**, v. 14, n. 6, p. 555–569, jun. 2019.

COLLINS, Maurice N. *et al.* Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 92, n. 2, p. 1262-1279, fev. 2013. Elsevier BV.

CRUZ, Ivana Beatrice Mânica da; *et al.* Regenerative potential of the cartilaginous tissue in mesenchymal stem cells: update, limitations, and challenges. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 52, n. 1, p. 2–10, 2017.

CZYZ, J. *et al.* Potential of Embryonic and Adult Stem Cells in vitro. **Biological Chemistry**, [S.L.], v. 384, n. 10-11, p. 1391-1401, 7 jan. 2003. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/bc.2003.155>.

DALLARI, D. *et al.* Enhanced Tibial Osteotomy Healing with Use of Bone Grafts Supplemented with Platelet Gel or Platelet Gel and Bone Marrow Stromal Cells: **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 89, n. 11, p. 2413–2420, nov. 2007.

DEGLI ESPOSTI, M. *et al.* Highly porous PHB-based bioactive scaffolds for bone tissue engineering by in situ synthesis of hydroxyapatite. **Materials Science and Engineering**, v. 100, p. 286–296, jul. 2019.

DOI, Akiko *et al.* Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. **Nature Genetics**, [S.L.], v. 41, n. 12, p. 1350-1353, 1 nov. 2009. Springer Science and Business Media LLC.

DONG, Chanjuan *et al.* Application of Collagen Scaffold in Tissue Engineering: recent advances and new perspectives. **Polymers**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 42, 4 fev. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym8020042>.

FAYAZ, H. C. *et al.* The role of stem cells in fracture healing and nonunion. **International Orthopaedics**, v. 35, n. 11, p. 1587, 24 ago. 2011.

FAZZALARI, N. L. Bone fracture and bone fracture repair. **Osteoporosis International**, v. 22, n. 6, p. 2003–2006, jun. 2011.

FISCHBACH, Gerald D. *et al.* Stem cells: science, policy, and ethics. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 114, n. 10, p. 1364-1370, 15 nov. 2004. American Society for Clinical Investigation.

FLORENCIO-SILVA, R. *et al.* Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells", **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-17 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>

FUOCO, N. L. *et al.* Proposição de uma nova metodologia para isolamento e cultivo de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo. **Interdisciplinary Journal of Experimental Studies**, v. 8, n. 1, 11 nov. 2016.

GLYN-JONES, S *et al.* Osteoarthritis. *The Lancet*, v. 386, n. 9991, p. 376–387, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614608023>>.

GOLDRING, Mary B.; OTERO, Miguel. Inflammation in osteoarthritis. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 23, n. 5, p. 471–478, 2011. Disponível em: <<https://journals.lww.com/00002281-201109000-00012>>

GRANCHI, D. *et al.* Changes of Bone Turnover Markers in Long Bone Nonunions Treated with a Regenerative Approach. **Stem Cells International**, v. 2017, p. 3674045, 2017.

HAN, J *et al.* Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. **Australian Dental Journal**, [S.L.], v. 59, p. 117-130, 23 set. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/adj.12100>.

HAN, Y. *et al.* Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. **Cells**, v. 8, n. 8, p. 886, ago. 2019.

HAN, Yu *et al.* Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. **Cells**, [S.L.], v. 8, n. 8, p. 886, 13 ago. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells8080886>.

HENRY, James P. *et al.* Histology, Osteoblasts. **StatPearls**. Treasure Island (FL), 10 maio 2021. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557792/>

HERRERO-BEAUMONT, Gabriel; *et al.* Clinical settings in knee osteoarthritis: Pathophysiology guides treatment. *Maturitas*, v. 96, p. 54–57, 2017.

HILFIKER, Andres *et al.* Mesenchymal stem cells and progenitor cells in connective tissue engineering and regenerative medicine: is there a future for transplantation?. **Langenbeck'S Archives Of Surgery**, [S.L.], v. 396, n. 4, p. 489-497, 4 mar. 2011. Springer Science and Business Media LLC.

HUNTER, David J; BIERMA-ZEINSTRAS, Sita. Osteoarthritis. **The Lancet**, v. 393, n. 10182, p. 1745–1759, 2019.

IKADA, Yoshito *et al.* Challenges in tissue engineering. **Journal Of The Royal Society Interface**, [S.L.], v. 3, n. 10, p. 589-601, 18 abr. 2006. The Royal Society.

JUNQUEIRA, Luiz C. U. *Histologia básica: texto e atlas*. 13. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2018.

KAPOOR, D. N. *et al.* PLGA: a unique polymer for drug delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 6, n. 1, p. 41–58, 1 jan. 2015..

KAWAMURA, M. *et al.* Feasibility, Safety, and Therapeutic Efficacy of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocyte Sheets in a Porcine Ischemic Cardiomyopathy Model. **Circulation**, [S.L.], v. 126, n. 111, p. 29-37, 10 set. 2012. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

KELLGREN, J.; LAWRENCE, J. Radiological assessment of osteo-arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 16, n. 4, p. 494, 1957.

KHADEMHOSEINI, Ali *et al.* A decade of progress in tissue engineering. **Nature Protocols**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1775-1781, 1 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC.

KHAN, Irfan A. *et al.* Histology, Osteoclasts. **StatPearls**. Treasure Island (FL), 28 abr. 2021. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554489/>

KHANG, Gilson *et al.* BIOMATERIALS: TISSUE-ENGINEERING AND SCAFFOLDS. In: WEBSTER, John G.. **ENCYCLOPEDIA OF MEDICAL DEVICES AND INSTRUMENTATION**. 2. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2006. p. 366-382.

KHOJASTEHA, A. *et al.* Bone engineering in dog mandible: Coculturing mesenchymal stem cells with endothelial progenitor cells in a composite scaffold containing vascular endothelial growth factor. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, n. 7, p. 1767–1777, 2017.

KIM, Y. S.; KOH, Y. G. Injection of Mesenchymal Stem Cells as a Supplementary Strategy of Marrow Stimulation Improves Cartilage Regeneration After Lateral Sliding Calcaneal Osteotomy for Varus Ankle Osteoarthritis: Clinical and Second-Look Arthroscopic Results. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery: Official Publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association**, v. 32, n. 5, p. 878–889, maio 2016.

LI, N. et al. Periosteum tissue engineering—a review. **Biomaterials Science**, v. 4, n. 11, p. 1554–1561, 18 out. 2016.

LIN, Hang *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells: aging and tissue engineering applications to enhance bone healing. **Biomaterials**, [S.L.], v. 203, p. 96-110, maio 2019. Elsevier BV.

LINERO, I.; CHAPARRO, O. Paracrine Effect of Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Adipose Tissue in Bone Regeneration. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. e107001, 8 set. 2014.

LOI, Florence *et al.* Inflammation, fracture and bone repair. **Bone**, v. 86, p. 119–130, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328216300540>>.

LV, F.-J. et al. Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells. **STEM CELLS**, v. 32, n. 6, p. 1408–1419, 2014.

MARIEB, Elaine N.; WILHELM, Patricia Brady; MALLATT, Jon. **Human Anatomy**. 6. ed. São Francisco: Pearson Education,, 2012.

MARSELL, R.; EINHORN, T. A. The biology of fracture healing. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 551–555, jun. 2011.

MARTINS, E. A. N., *et al.* Líquido sinovial da articulação femuropatelar após desmotomia patelar medial experimental em equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.784-788, mai.-jun. 2007.

MONTANARI, Tatiana. **Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas**.3. ed. Porto Alegre: Edição do Autor, 2016.

NAHIAN, Ahmed, ALESSA, Ahmed M. Histology, Osteocytes. **StatPearls**. Treasure Island (FL), 10 maio 2021. StatPearls Publishing.

NAHIAN, Ahmed, CHAUHAN, Pradip R. Histology, Periosteum And Endosteum. **StatPearls**. Treasure Island (FL), 10 maio 2021. StatPearls Publishing.

OSUGI, M. et al. Conditioned Media from Mesenchymal Stem Cells Enhanced Bone Regeneration in Rat Calvarial Bone Defects. **Tissue Engineering Part A**, v. 18, n. 13–14, p. 1479–1489, 1 jul. 2012.

OTT, S. M. Cortical or Trabecular Bone: What’s the Difference? **American Journal of Nephrology**, v. 47, n. 6, p. 373–375, 2018.

OZDIL, Deniz *et al.* Polymers for medical and tissue engineering applications. **Journal Of Chemical Technology & Biotechnology**, [S.L.], v. 89, n. 12, p. 1793-1810, 3 set. 2014. Wiley.

PESARINI, João Renato et al. Calcitriol combined with calcium chloride causes apoptosis in undifferentiated adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells, but this effect decreases during adipogenic differentiation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 108, p.914-924, dez. 2018. Elsevier BV.

PESARINI, João Renato et al. Vitamin D: Correlation with biochemical and body composition changes in a southern Brazilian population and induction of cytotoxicity in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 91, p.861-871, jul. 2017. Elsevier BV.

RANNOU, Francois. Pathophysiology of osteoarthritis. In: ARDEN, Nigel; BLANCO, Francisco; COOPER, C.; et al (Orgs.). **Atlas of Osteoarthritis**. Tarporley: Springer Healthcare Ltd., 2014, p. 37–54. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-910315-16-3_3>

REDOME, Instituto Nacional de Câncer. **Como são Obtidas as Células para o Transplante**. Disponível em: <http://redome.inca.gov.br/medula-ossea/como-sao-obtidas-as-celulas-para-o-transplante/#:~:text=A%20coleta%20de%20c%C3%A9lulas%20para,seja%20aspirada%20parte%20da%20medula>. Acesso em: 27 fev. 2022.

SADEGHI, A. R. et al. Surface modification of electrospun PLGA scaffold with collagen for bioengineered skin substitutes. **Materials Science and Engineering: C**, v. 66, p. 130–137, set. 2016.

SATHYENDRA, V.; DAROWISH, M. Basic Science of Bone Healing. **Hand Clinics**, v. 29, n. 4, p. 473–481, nov. 2013.

SCHWINDT, T. et al. Proliferar ou diferenciar? Perspectivas de destino das células-tronco. *Jornal Brasileiro de Neurocirurgia*, v. 16, n. 1, p. 13-19, 2005.

SCHWEICH ADAMI, Laynna de Carvalho. **EFEITOS DA TERAPIA CELULAR, COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DO TECIDO ADIPOSE, E DO INFILTRADO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE NÃO RESPONSIVA AO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO**. 2021. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2021.

SCHWEICH-ADAMI, L. DE C. et al. Efeitos das células-tronco mesenquimais no tratamento da osteoartrite de joelho: um relato de caso no Sistema Único de Saúde do Brasil. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 1 out. 2021.

SILVA, Renaira Oliveira da. **Influência do envelhecimento sobre aspectos imunomodulatórios de células-tronco mesenquimais medulares em situação de desnutrição protéica**. 2021. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Farmácia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

SINGH, A. et al. The role of stem cells in osteoarthritis. **Bone & Joint Research**, v. 3, n. 2, p. 32–37, 1 fev. 2014.

SINUSAS, Keith. Osteoarthritis: Diagnosis and Treatment. **American Family Physician**, v. 85, n. 1, p. 49–56, 2012. Disponível em: <<https://www.aafp.org/afp/2012/0101/p49.html>>

SOLAIMAN, Amany A. Moneim. Stromal Cell Ultrastructure. **Stromal Cells - Structure, Function, And Therapeutic Implications**, [S.L.], p. 27-39, 23 jan. 2019. IntechOpen.

SOUSA, Vitor Magalini Zago de. **CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA, TÉRMICA E MORFOLÓGICA DE COMPÓSITOS DE POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) REFORÇADOS COM FIBRAS DE CURAUÁ**. 2016. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Integridade de Materiais da Engenharia, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SOUZA, M. V. DE et al. Quantificação de fatores de crescimento na pele de equinos tratada com plasma rico em plaquetas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 599–612, jun. 2014.

SUN, Jinchun *et al.* Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. **Materials**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 1285-1309, 26 mar. 2013. MDPI AG.

TER HUURNE, M. et al. Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experimental osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 64, n. 11, p. 3604–3613, 2012.

VEGA, A. et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. **Transplantation**, v. 99, n. 8, p. 1681–1690, ago. 2015.

WANG, M. et al. Advances and Prospects in Stem Cells for Cartilage Regeneration. **Stem Cells International**, v. 2017, p. e4130607, 26 jan. 2017.

ZHANG, R. et al. Silver nanoparticles promote osteogenesis of mesenchymal stem cells and improve bone fracture healing in osteogenesis mechanism mouse model. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 11, n. 8, p. 1949–1959, 1 nov. 2015.