****

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA – UFBA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ICS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA –PPB**

**THIAGO ALVIM DO AMARAL**

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO subcondral DE CéLULAS MONONUCLEARES DA MEDULA ÓSSEA PARA O TRATAMENTO DE OSTEOARTRite Do JOELHO**

Salvador

2022

**THIAGO ALVIM DO AMARAL**

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO subcondral DE CéLULAS MONONUCLEARES DA MEDULA ÓSSEA PARA O TRATAMENTO De OSTEOARTRite Do JOELHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA), como requisito para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gildasio de Cerqueira Daltro

Salvador

2022

**Texto, Carta

Descrição gerada automaticamente**

**THIAGO ALVIM DO AMARAL**

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO subcondral DE CéLULAS MONONUCLEARES DA MEDULA ÓSSEA PARA O TRATAMENTO De OSTEOARTRite Do JOELHO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Salvador, 07 de Junho de 2022.

Banca examinadora

Texto

Descrição gerada automaticamente

Prof. Dr. Gildasio de Cerqueira Daltro – Orientador \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Doutor em Cirurgia e Livre docência pela Universidade Federal da Bahia

Professor titular Universidade Federal da Bahia

Desenho de estrelas

Descrição gerada automaticamente com confiança baixa

Prof. Dr. Vitor Antônio Fortuna – Banca Examinadora\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Doutor em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professor Associado da Universidade Federal da Bahia

Fundo preto com letras brancas

Descrição gerada automaticamente com confiança média

Prof. Dr. Davi Araújo Veiga Rosário– Banca Examinadora\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Doutor em Biotecnologia pela UNESP

Professor da disciplina de Ortopedia da UNIFTC

Com carinho,

À Deus,

À minha família,

E a todos que seguiram comigo o percurso dessa longa estrada.

**AGRADECIMENTOS**

À minha esposa Maíne, minha melhor amiga, a sua presença enriquece, imensamente, a minha vida. Obrigado pela cumplicidade e apoio irrestrito!

Ao meu filho Arthur, nossa família foi abençoada com a sua chegada. Você trouxe ainda mais amor e alegria ao nosso lar.

Ao meu mentor e orientador Prof. Dr. Gildásio Daltro, pela excelente orientação, compromisso com a pesquisa, como também amizade e confiança.

A Dra. Paula Daltro, pela colaboração científica, assim como facilitação da estrutura para realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. César Augusto, ao Grupo DASA, e aos funcionários da clínica IMAGE pela parceria e apoio. Vocês foram de fundamental importância para a viabilização da nossa pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), que contribuíram para a minha formação acadêmica ao longo do curso.

A Thiago Faleiro, Betariz, Thaise, Bruno Adelmo, integrantes do Núcleo de Pós-Graduação do Aparelho Locomotor (NUPSAL) da UFBA, pela colaboração e auxílio na resolução de muitas dificuldades durante a pesquisa.

Aos funcionários do Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), que me auxiliaram em diversos aspectos técnicos do trabalho.

AMARAL, Thiago Alvim. **Transplante autólogo subcondral de células mononucleares da medula óssea para o tratamento de osteoartrite do joelho.** 2022. Orientador: Gildasio de Cerqueira Daltro. 55 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2022.

**RESUMO**

**INTRODUÇÃO:** a osteoartrite constitui a doença articular mais comum em todo o mundo. Novas evidências demonstraram o importante papel desempenhado pelo osso subcondral em relação ao desenvolvimento dessa patologia. No entanto, os tratamentos disponíveis produzem, apenas, o controle dos sintomas e não abordam o osso subcondral patológico. **OBJETIVOS:** avaliar a segurança do transplante autólogo subcondral de Células Mononucleares da Medula Óssea Autóloga (CMMO) e sua eficácia no tratamento de pacientes com graus iniciais de osteoartrite do joelho. **MÉTODOS:** estudo observacional, prospectivo, longitudinal, com 13 pacientes que foram selecionados e submetidos ao tratamento com transplante autólogo subcondral de CMMO no joelho. Os pacientes foram avaliados segundo o *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score* (*KOOS*), Western Ontario e *McMaster Universities OA Index* (*WOMAC*), questionário de qualidade de vida SF-36 e pela Escala Visual Analógica (EVA) de dor por um período de 12 meses. As alterações da cartilagem articular foram avaliadas através de exames de ressonância magnética. **RESULTADOS:** A análise do desfecho mostrou uma melhora na redução da dor de 17.7 ± 22.2 pontos, doze meses após o tratamento (𝑝 = 0,014). Também houve uma melhora em todos os aspectos do KOOS, assim como no WOMAC. A melhora na EVA para dor, relativa à atividade diária, foi detectada na terceira semana após o procedimento, que durou até o final do período de estudo. Dez (76,9%) pacientes mantiveram o mesmo aspecto radiológico da lesão após 12 meses do procedimento. **CONCLUSÃO:** concluiu-se que a técnica de transplante autólogo de CMMO subcondral, desenvolvida neste estudo é segura, proporciona melhorias significativas nos parâmetros de dor, capacidade funcional e qualidade de vida em avaliação de curto prazo. Essa técnica pode ser uma nova modalidade de tratamento para osteoartrite em estágios iniciais.

**Palavras-chave**: Joelho. Osteoartrite. Osso subcondral. Terapia celular.

AMARAL, Thiago Alvim. **Autologous subchondral bone marrow mononuclear cell transplantation for the treatment of knee osteoarthritis.** Thesis advisor:Gildasio de Cerqueira Daltro**.** 2022. 55 s. ill. Dissertation (Master in Biotecnology) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2022.

**ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** osteoarthritis is the most common joint disease worldwide. New evidence demonstrates the important role played by the subchondral bone in the development of this pathology. However, the available treatments only produce symptom control and do not address the pathological subchondral bone. **OBJECTIVES:** To evaluate the safety of autologous subchondral autologous bone marrow mononuclear cell transplantation (BMMC) and its efficacy in the treatment of patients with early grades of knee osteoarthritis. **METHODS:** 13 patients were selected and underwent treatment with autologous subchondral BMMC knee transplantation. Patients were evaluated according to the Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), Western Ontario and McMaster Universities OA Index (WOMAC), SF-36 quality of life questionnaire and the Visual Analogue Scale (VAS) for pain. Changes in articular cartilage were evaluated using magnetic resonance imaging. **RESULTS:** Outcome analysis showed an improvement in pain reduction of 17.7 ± 22.2 points twelve months after treatment (𝑝 = 0.014). There was also an improvement in all other areas of KOOS as well as WOMAC. Improvement in pain VAS, related to daily activity, was detected in the third week after the procedure, which lasted until the end of the study period. Ten (76.9%) patients maintained the same radiological appearance of the lesion 12 months after the procedure. **CONCLUSION**: it was concluded that the subchondral BMMC autologous transplant technique developed in this study is safe, providing significant improvements in pain parameters, functional capacity and quality of life in short-term evaluation. This technique could be a new treatment modality for early-stage osteoarthritis.

**Keywords**: Knee. Osteoarthritis. Subchondral bone. Cell therapy.

**LISTA DA FIGURAS**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Figura 1 | Fotografias das etapas do procedimento cirúrgico: 1 a – punção para coleta do aspirado de medula óssea foi obtido na crista ilíaca posterior do paciente 1B- O CMMO sendo injetado por abordagem percutânea com agulha até a área desejada do osso subcondral na região epifisária 1C- sob orientação fluoroscópica, a agulha sendo introduzida na área desejada do osso subcondral na região epifisária da tíbia 1D- agulha sendo introduzida na área desejada do osso subcondral na região epifisária do fêmur............ | 31 |
| Figura 2 | *Dot plots* representativos da estratégia de seleção para células progenitoras..................................................................................... | 32 |
| Figura 3 | Desenho esquemático da metodologia de seleção dos participantes do estudo................................................................................... | 34 |
| Figura 4 | Evolução do EVA ao longo do tempo de acompanhamento.......... | 39 |
| Figura 5 | Evolução dos domínios do escore WOMAC ao longo do tempo de acompanhamento........................................................................ | 40 |
| Figura 6 | Evolução dos domínios do escore KOOS ao longo do tempo de acompanhamento............................................................................ | 40 |
| Figura 7 | Evolução dos domínios do escore SF-36 ao longo do tempo de acompanhamento............................................................................. | 41 |

**LISTA DA TABELAS**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tabela 1 | Classificação radiológica da osteoartrite de joelho, de acordo com *Kellgren & Lawrence*.............................................................. | 18 |
| Tabela 2 | Características epidemiológicas e clínicas da amostra.................... | 35 |
| Tabela 3 | Frequências de fenótipo de células-tronco hematopoéticas progenitoras são aumentadas na crista ilíaca............................................ | 36 |
| Tabela 4 | Resultados clínicos ao longo do período (N = 13) ......................... | 38 |

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

|  |  |
| --- | --- |
| ACR | *American College of Rheumatology* |
| AINEs | Anti-inflamatórios não esteroidais |
| AH | Ácido Hialurônico |
| ATJ | Artroplastia Total do Joelho |
| AMO | Aspirado da Medula Óssea |
| *CaLS* | *Cartilage Lesion Score* |
| CTMs | Células-Tronco Mesenquimais |
| CMMO | Células Mononucleares da Medula Óssea |
| CTM-MO | Células-tronco Mesenquimais de Medula Óssea |
| CTM-AD | Células-tronco Mesenquimais derivadas do Tecido Adiposo |
| CTM-CU | Células-tronco Mesenquimais derivadas de Cordão Umbilical |
| CTH | Frequência de Células-Tronco Hematopoéticas |
| EVA | Escala Visual Analógica de Dor |
| EULAR | Liga Europeia contra o Reumatismo |
| FDA | *Food and Drug Administration* |
| IMC | Índice de massa corporal |
| MHC | Complexo Principal de Histocompatibilidade |
| MMPs | Metaloproteinases de matriz |
| OA | Osteoartrite |
| OARSI | Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite |
| RM | Ressonância Magnética |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre Esclarecido |
| *WOMAC* | *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis* |
| KOOS | *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score* |
| VS | Viscosuplementação |

**SUMÁRIO**

[1. **INTRODUÇÃO** 12](#_Toc88517444)

[2. **REVISÃO DE LITERATURA** 14](#_Toc88517445)

[2.1 EPIDEMIOLOGIA 14](#_Toc88517446)

[2.2 FATORES DE RISCO 15](#_Toc88517447)

[2.3 MUDANÇAS PATOLÓGICAS LOCAIS 17](#_Toc88517449)

[2.4 DIAGNÓSTICO 18](#_Toc88517450)

[2.5 TRATAMENTO 19](#_Toc88517453)

[2.6 TERAPIA CELULAR PARA O TRATAMENTO DA OA 23](#_Toc88517454)

[3. **OBJETIVO** 27](#_Toc88517462)

[4. **MATERIAL E MÉTODOS** 28](#_Toc88517463)

[4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO 28](#_Toc88517464)

[4.2 SELEÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO 28](#_Toc88517465)

[4.3 TAMANHO DA AMOSTRA 28](#_Toc88517466)

[4.4 PLANO DE RECRUTAMENTO 29](#_Toc88517467)

[4.5 PLANO DE ACOMPANHAMENTO 29](#_Toc88517468)

[4.6 IMAGEM 29](#_Toc88517469)

[4.7 TÉCNICA OPERATÓRIA 30](#_Toc88517470)

[4.8 CARACTERIZAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS (CD34 + CD45LOW) 32](#_Toc88517472)

[4.9 PLANO DE ANÁLISE DOS DADOS 33](#_Toc88517474)

[5. **RESULTADOS** 34](#_Toc88517475)

[5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES 34](#_Toc88517476)

[5.2 CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE CELULAR 35](#_Toc88517477)

[5.3 EVOLUÇÃO DA DOR, FUNÇÃO E QUALIDADE DE VIDA 36](#_Toc88517479)

[5.4 EVENTOS ADVERSOS 41](#_Toc88517480)

[5.5 IMAGEM 41](#_Toc88517481)

6. [**DISCUSSÃO** 42](#_Toc88517489)

[**REFERÊNCIAS** 46](#_Toc88517490)

1. **INTRODUÇÃO**

A osteoartrite (OA) consiste em doença articular mais comum na população adulta em todo o mundo, e uma das principais causas de dor e incapacidade física. Com o envelhecimento da população, espera-se que o número de idosos acometidos pela OA aumente substancialmente nas próximas duas décadas (FELSON *et al.*, 2001; NHO *et al*., 2013). A patogênese da OA e a causa da dor produzida ainda não são claras. Essa doença era considerada uma desordem primária da cartilagem articular. No entanto, novas evidências demonstraram o importante papel desempenhado pelo osso subcondral em relação ao desenvolvimento e à progressão da lesão (SURI;WALSH, 2012).

O osso subcondral fornece suporte para a cartilagem sobrejacente e a remodela, ativamente, em resposta a uma sobrecarga local. Na presença de estresse continuo, a capacidade de cicatrização do osso subcondral pode ser afetada, o que pode provocar mudanças estruturais e bioquímicas na funcionalidade do tecido (RADIN; ROSE, 1986). Cox *et al*. (2012) observaram alteração da mineralização óssea subcondral, apenas, em áreas de destruição significativa da cartilagem. Estudos histológicos do tecido de pacientes com osteoartrite apresentaram alterações incluindo fibrose da medula óssea, necrose, adipócitos doentes e alterações na estrutura óssea trabecular(HUNTER *et al.*, 2009; ZANETTI *et al.*, 2000). Campbell *et al*. (2016) foram os primeiros a estudar o papel das Células Tronco Mesenquimais (CTMs), presentes no osso subcondral de pacientes com AO. Eles observaram um fenótipo alterado de CTMs, com menor capacidade de proliferação e produção de matrix mineralizada, o que poderia explicar achados histológicos de densidade mineral óssea reduzida. Essas alterações corroboram a hipótese de que o osso subcondral de pacientes com AO apresenta excessiva remodelacão sem capacidade de formar um osso com características normais (FELSON *et al.*, 2003; KIJOWSKI *et al.*, 2006).

Esforços terapêuticos para modificar a história natural da doença foram malsucedidos e, atualmente, nenhuma terapia é capaz de prevenir a destruição progressiva da articulação. Os tratamentos disponíveis produzem controle sintomáticos em vez de regenerativos e não abordam o osso subcondral patológico (KON *et al.*, 2012). Embora o tratamento cirúrgico com Artroplastia Total do Joelho (ATJ) tenha sido demonstrado como uma intervenção com resultado durável, levando a um alívio confiável da dor e à melhora da qualidade de vida, é uma intervenção cirúrgica agressiva importante e pode estar associada a maior tempo de recuperação, além de alto risco de complicações (HEALY *et al.*, 2013). Por esses motivos, opções de tratamentos menos invasivos são desejáveis, particularmente para pacientes mais jovens (SHIRAI *et al.*, 2011) .

Soluções biológicas têm sido desenvolvidas para o tratamento de diversas patologias do aparelho locomotor, tais como o transplante autólogo de Células Mononucleares da Medula Óssea (CMMO), relativo ao tratamento da osteonecrose da articulação do quadril e do joelho (DALTRO *et al.*, 2018a, 2015; HERNIGOU; DALTRO; HERNIGOU*.* 2018). Estudos demostraram que as CTMs não somente são capazes de se diferenciar para linhagens condrogênicas e osteogênicas como também são capazes de produzir fatores de crescimento e citocinas que são cruciais para a cicatrização dos tecidos e remodelação óssea (HERNIGOU *et al.*, 2016; LEBOUVIER *et al.*, 2015; PIUZZI *et al.*, 2017). O transplante autólogo com CMMO, diretamente no osso subcondral, poderia atuar sobre o tecido lesado e modular o processo de reparo do osso subcondral, impactando, diretamente, a melhora clínica dos pacientes e a diminuição da progressão da OA.

1. **REVISÃO DE LITERATURA**

2.1 EPIDEMIOLOGIA

A OA é a doença articular que acomete cerca de 15% da população mundial (GUCCIONE *et al.*, 1994). OA é a principal causa de incapacidade musculoesquelética entre os adultos, com o risco estimado de acometimento do joelho, sendo de 40% em homens e 47% nas mulheres. Atualmente, a OA é uma das doenças mais comumente diagnosticadas na prática geral, em grande parte devido ao envelhecimento da população. Isso foi demonstrado em estimativas recentes de dados dos EUA, que indicam que a prevalência de OA clínica nas articulações da mão, quadril ou joelho aumentou de 21 milhões de adultos americanos com 25 anos ou mais em 1995 para 27 milhões em apenas uma década (LAWRENCE *et al.*, 2008).

No estudo de Framingham, a prevalência radiográfica de OA do joelho de indivíduos entre 63 e 94 anos de idade foi estimada em 33%. A prevalência de OA sintomática no mesmo estudo foi de 9,5% e significativamente maior em mulheres do que em homens (11,4% *versus* 6,8%). Entre as mulheres com menos de 70 anos, a prevalência de OA do joelho sintomática foi de 7,6%, aumentando para 15,8% naquelas com mais de 80 anos (FELSON *et al.*, 1987). Dados de uma grande pesquisa holandesa, que incluíram uma faixa etária mais ampla, confirmam um aumento na prevalência de OA radiográfica, com início, geralmente, aos 45 anos, e com um acometimento aparente maior em mulheres do que em homens (SAASE *et al.*, 1989). A *Fallon Community Health Plan*, uma organização de manutenção da saúde no centro de Massachusetts, realizou estudo entre adultos de 20 a 89 anos e observou uma incidência da OA do joelho de 240 / 100.000 pessoas / ano. A incidência aumentou com a idade, no entanto, com um nivelamento em idades mais avançadas (> 80 anos) e com taxas maiores em mulheres do que em homens, especialmente após os 50 anos de idade (OLIVERIA *et al.*, 1995).

No Brasil, não há estudos sobre incidência e prevalência da OA em nossa na população. No entanto, a experiência clínica nos mostra que nossos números não devem ser diferentes daqueles encontrados em outros países, onde esses índices são bastante elevados.A OA é a terceira maior causa de afastamento do trabalho pelos segurados da previdência social no Brasil, ficando atrás, apenas, das doenças cardiovasculares e mentais, resultando em 65% das causas de incapacidade (MARQUES; KONDO, 1998).

A OA apresenta-se com dor e inchaço, resultando em diminuição da mobilidade articular. Outros sintomas como creptação articular, rigidez articular menor que 15 minutos, e algumas vezes inflamação, com alterações biomecânicas importantes. Com a evolução da doença, a dor pode ocorrer aos mínimos esforços ou mesmo no repouso. OA é uma causa bem conhecida de incapacidade em todo o mundo. A cronicidade da dor pode trazer com ela, além de incapacidade física, incapacidade psicossocial (HOPMAN-ROCK *et al.*, 1996). Em um estudo de base populacional na Suécia, o maior risco de afastamento por doença ou incapacidade foi atribuído à OA do joelho (HUBERTSSON *et al.*, 2017). Dados do estudo *OAI* (*Osteoarthritis Initiative*) demonstraram que aqueles com OA de membros inferiores tinham maior chance de desenvolver sintomas depressivos do que aqueles sem a doença (VERONESE *et al.*, 2017).

2.2 FATORES DE RISCO

Tal como acontece com todas as doenças, a OA parece ser o resultado de uma interação complexa entre fatores mecânicos, celulares e bioquímicos que, atuando em conjunto, podem causar o início da OA em qualquer indivíduo. O envelhecimento está intrinsecamente associado ao aumento da incidência de OA do joelho. A força muscular, o tempo de reação e a propriocepção são fatores implicados na estabilidade articular, e estão comprometidos com o envelhecimento. O risco de OA com o envelhecimento é aumentado por uma capacidade diminuída de reparação celular. Essas características do processo de envelhecimento por si só podem contribuir para o aumento do risco de incidência e progressão da OA do joelho (VAN DER KRAAN; VAN DEN BERG, 2008).

A predileção pelo sexo feminino não é bem entendida. Presume-se que, em mulheres jovens, a presença do hormônio estrogênio serve de proteção e, na pós-menopausa, sua deficiência relativa pode estar correlacionada à perda de cartilagem. No entanto, não se chegou a um claro consenso sobre o papel da biologia do estrogênio quanto ao risco de incidência e progressão da AO (NEVITT *et al.*, 2001). Disparidades de gênero também podem ser causadas por diferenças na força óssea, alinhamento, frouxidão ligamentar, gravidez e força neuromuscular. As mulheres, também, podem ter um volume reduzido de cartilagem do joelho do que os homens, porém não se pode afirmar que isso contribui para a perda acelerada da cartilagem.

O aumento do estresse mecânico resultante de lesões traumáticas de ligamentos e da cartilagem, assim como do aumento das forças mecânicas, associadas à obesidade, constitui um proeminente fator de risco para o desenvolvimento da OA. A obesidade representa um dos fatores de risco mais importantes para a OA em articulações periféricas, como joelho e quadril (JIANG *et al*., 2012). A obesidade também está associada à OA da mão, conferindo a possibilidade de que essa condição também possa fornecer alguns efeitos sistêmicos metabólicos e inflamatórios (CARMAN *et al.*, 1994). O risco durante a vida de desenvolver OA do joelho para pessoas obesas (índice de massa corporal [IMC] > 30) é de 60%, contra 46,9% para aquelas com sobrepeso (IMC, 25 a 30) e 30,2% para aqueles com IMC inferiores a 25 (FELSON *et al.*, 1988). Por outro lado, o estudo de Framingham mostrou que a redução de peso em 5 kg proporciona uma redução do risco de desenvolvimento de OA do joelho em 50%, os resultados, também, foram apoiados por uma metanálise realizada em 2007 (CHRISTENSEN *et al.*, 2007; FELSON *et al.*, 1992).

A mudança do alinhamento dos membros inferiores pode alterar as forças mecânicas e a distribuição da carga pelo joelho. O mau alinhamento é um dos mais fortes preditores de progressão da OA do joelho. Um estudo prospectivo de coorte mostrou que o alinhamento anormal estava fortemente associado com o aumento da degradação estrutural no compartimento que estava sob o maior estresse compressivo (FELSON *et al.*, 2001). A progressão medial da OA do joelho foi quatro vezes mais provável em indivíduos com alinhamento em varo, enquanto a progressão lateral foi cinco vezes mais provável em indivíduos com alinhamento em valgo (BROUWER *et al.*, 2007). A associação entre a incidência de OA no joelho e o desalinhamento é menos aparente. Já o estudo de Framingham não encontrou associação entre o alinhamento da articulação do joelho e risco aumentado de incidência de OA radiográfica do joelho (HUNTER *et al.*, 2007).

Déficits na força muscular, ativação e propriocepção são comuns em pacientes com OA de joelho e podem ocorrer como consequência da OA relacionada ao desuso. Uma revisão recente da literatura concluiu que há algumas evidências de que a fraqueza muscular pode predispor ao início e, potencialmente, à progressão da OA do joelho. O quadríceps femoral é o principal músculo antigravitacional do membro inferior e serve para desacelerar o membro inferior durante a deambulação, absorver a carga do membro, bem como proporcionar estabilidade articular dinâmica. Assim, foi postulado que a fraqueza do quadríceps femoral poderia desempenhar um papel importante na gênese da OA do joelho. A melhora da função muscular, especialmente a força, por meio do exercício, tem sido associada à redução da dor e melhora da função em pessoas com OA do joelho (BENNELL *et al.*, 2013).

* 1. MUDANÇAS PATOLÓGICAS LOCAIS

Embora muitos fatores tenham sido identificados em pacientes com OA, os mecanismos para o início e a progressão da OA não são bem compreendidos. A OA já foi considerada um distúrbio degenerativo primário da cartilagem articular, porém, atualmente, é amplamente reconhecida que múltiplas estruturas estão envolvidas e afetadas no seu desenvolvimento. O osso subcondral sofre adaptações durante o desenvolvimento da AO por meio de processos biomecânicos e biológicos que resultam em alterações na composição, estrutura e propriedades funcionais desta unidade. Essas alterações incluem o aumento da espessura da placa subcondral, esclerose, estreitamento do espaço articular, mineralização reduzida da matriz, aumento do volume ósseo esponjoso (BURR, 2004)

A interface cartilagem-osso contém a região entre as camadas profundas da cartilagem articular e o osso subcondral subjacente que é relativamente não poroso e pouco vascularizado. Essa região compreende a camada de cartilagem calcificada e a placa óssea subcondral. A estreita associação física entre o osso subcondral e a cartilagem sugere a possibilidade de uma interação bioquímica e molecular por meio da interface nas articulações. Aumento dos canais de comunicação vascular, fissuras e microfissuras por meio do complexo e da anatomia irregular da junção cartilagem-osso poderiam atuar como um canal de transporte, sugerindo que há interferência na interação molecular entre a cartilagem e o osso subcondral. Durante os estágios iniciais da OA, a arquitetura e as propriedades do osso cortical e trabecular periarticular são modificadas por meio dos processos de remodelação e modelagem, mediados por células. O ciclo de remodelação é iniciado pela ativação de superfícies ósseas quiescentes e iniciação da reabsorção óssea mediada por osteoclastos. O processo de reabsorção óssea é seguido por uma fase de formação óssea mediada por osteoblastos e, em condições fisiológicas, a quantidade de osso removida durante as fases de reabsorção e de formação é equilibrada de tal forma que a massa óssea é mantida, embora a forma e arquitetura do osso possam ser modificadas. Esse sistema celular permite a adaptação do esqueleto à alteração das influências mecânicas e fornece um mecanismo importante para reparar danos que ocorrem no tecido ósseo durante o carregamento mecânico (BURR, 2004).

Alguns estudos demonstraram que, em pacientes com OA, ocorre um aumento do remodelamento ósseo subcondral, e que as várias citocinas e fatores de crescimento liberados podem alcançar a cartilagem articular sobrejacente e iniciar uma realimentação positiva (TAT *et al.*, 2010). Isso resulta em liberação adicional de enzimas proteolíticas, citocinas inflamatórias, metaloproteinases de matriz (MMPs) e agrecanase, que agem para acelerar a degradação da cartilagem (BONNET;WALSH, 2005, SELLAM; BERENBAUM, 2010). Os produtos da degradação da cartilagem são fagocitados ​​pelas células sinoviais, resultando em uma sinóvia inflamada, que, então, produz mediadores pró-inflamatórios. Essas alterações podem causar, por sua vez, alterações nas superfícies articulares adjacentes, o que alterará a congruência articular e, consequentemente, implicará progressão da doença (GOLDRING; GOLDRING, 2010). Assim, a modulação do turnover ósseo pode se tornar um alvo potencialmente interessante para o tratamento da OA e, portanto, os agentes de ação no osso subcondral podem ter consequências favoráveis ​​na estrutura da cartilagem e, subsequentemente, no tratamento da OA.

* 1. DIAGNÓSTICO

Os principais métodos de diagnóstico da OA constituem a avaliação clínica pelo médico especialista, seguida de exames complementares de radiografia, e Ressonância Magnética (RM).

A radiografia convencional é o método de imagem mais simples e barato para avaliação da osteoartrite do joelho. Entretanto, a avaliação da cartilagem articular nesse exame faz-se, por meio da medida do espaço articular existente, o que fornece apenas uma estimativa indireta da espessura da cartilagem (GUERMAZI; HUNTER; ROEMER, 2009). Kellgren e Lawrence apresentaram uma escala para classificação radiológica de OA, que é utilizada como método de avaliação de pacientes bem como para uso em estudos clínicos e epidemiológicos (KELLGREN; LAWRENCE, 1957) (tabela 1).

Tabela 1 – Classificação radiológica da osteoartrite de joelho, de acordo com Kellgren & Lawrence

|  |  |
| --- | --- |
| Grau Kellgren & Lawrence | Radiografia antero posterior e lateral |
|  |  |
| 1. Incipiente | Osteofitose mínima de significado duvidoso |
| 1. Mínima | Osteofitose definida, espaço articular preservado |
| 1. Moderada | Osteofitose definida, redução moderada do espaço articular |
| 1. Severa | Osteofitose exuberante, redução severa do espaço articular, esclerose óssea subcondral |
| 1. Grave | Osteofitose exuberante, redução severa do espaço articular, esclerose óssea subcondral, subluxação da tíbia, severo atrito ósseo |

Fonte: Adaptado de KELLGREN; LAWRENCE, 1957

Embora as radiografias sejam rápidas e, muitas vezes, mais viáveis, a RM tem a vantagem de poder visualizar as estruturas relativas a uma articulação com OA, melhorando, assim, nossa compreensão da associação entre mudança estrutural e sintomas clínicos e também avaliando as mudanças que ocorrem nessas estruturas ao longo do tempo. A RM permite uma avaliação detalhada da cartilagem, tanto as características morfológicas quanto o volume. A RM tem sido utilizada como exame de escolha em estudos de pesquisa, e foram desenvolvidos sistemas específicos de pontuação para quantificar a mudança patológica ao longo dos múltiplos compartimentos em dada articulação para OA (HUNTER *et al*., 2011; PETERFY *et al*., 2004).

Recentemente, surgiram técnicas quantitativas de RM, como o método denominado *CaLS* (*Cartilage Lesion Score*) que permite uma avaliação da cartilagem do joelho em pacientes com OA, utilizando imagens de RM convencional (ALIZAI *et al.*, 2014). Esse método apresenta grande concordância e reprodutibilidade inter e intra observadores. Além disso, provou ser útil para análise da degeneração da cartilagem e reparo desse tecido após intervenção cirúrgica no joelho (JOSEPH *et al.*, 2012). Também pode ser realizada de forma não invasiva sem a injeção de agentes de contraste. O *software* de pós-processamento está disponível em muitos sistemas comerciais de RM.

* 1. TRATAMENTO

A OA é uma doença crônica que não apresenta cura conhecida, tendo como objetivo principal do seu tratamento a melhora da dor, função e qualidade de vida (CAMANHO; IMAMURA; ARENDT-NIELSEN, 2011). Com manejo adequado, muitos pacientes conseguem retornar às suas atividades. Os tratamentos não cirúrgicos constituem a abordagem inicial para pacientes com sinais de OA do joelho. Há várias opções terapêuticas, e, muitas vezes, o paciente precisa tentar diferentes abordagens até encontrar a terapia mais adequada. O tratamento pode incluir uma ou mais dessas opções: perda de peso, exercícios de fortalecimento muscular, órteses, aplicação de gelo ou calor, tratamento farmacológico, viscossuplementação com injeções de Ácido Hialurônico (AH), injeções de corticosteroides e condroprotetores.

A fisioterapia demonstra papel de destaque no tratamento da OA. Os objetivos gerais da reabilitação constituem o aumento e a manutenção da função atual, além de evitar a deterioração articular. Programas de exercícios e/ou outras atividades físicas são recomendados para melhorar a dor e o *status* funcional. A massa muscular e a força são perdidas no processo natural de envelhecimento, por isso eexercícios específicos são importantes para o aumento da amplitude de movimento e flexibilidade, e para fortalecer os músculos do joelho (REGNAUX *et al.*, 2015). O exercício está incluído nas recomendações do *American College of Rheumatology* (ACR), na *European League Against Rheumatism* (EULAR) e da Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (OARSI) para o tratamento da osteoartrite do joelho (FERNANDES *et al.*, 2013; HOCHBERG *et al.*, 2012; MCALINDON *et al.*, 2014). As recomendações favorecem programas envolvendo treinamento aeróbico e de força, que incentivam a integração do exercício à vida diária e que são de natureza progressiva.

Muitas vezes, combinar estratégias comportamentais, destinadas à perda de peso, pode ser benéfico para controle dos sintomas, melhora da função e redução da progressão da doença (WLUKA; LOMBARD; CICUTTINI, 2013). Um estudo observou uma diminuição da degeneração da cartilagem do joelho entre os participantes que obtiveram uma perda de peso maior que 10%, além de uma melhoria significativa na dor e capacidade funcional (GERSING *et al.*, 2016). Ao aconselhar os pacientes sobre uma meta de redução de peso, uma perda de peso de 7% a 10% parece ser suficiente para obter alívio da dor no joelho e melhorar a função (MILLER *et al.*, 2006).

Com relação às recomendações farmacológicas, o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)tem forte indicação para o alívio da dor relacionada à osteoartrite. Infelizmente, os efeitos deletérios para os rins, bem como para os sistemas cardiovascular e gastrointestinal, fazem deles uma escolha mais arriscada em adultos mais velhos (SCARPIGNATO *et al.*, 2015). Quando surgem sinais de inflamação aguda e sinovite, as injeções de glicocorticóides intra-articulares podem aliviar, muito rapidamente, a dor e o derrame articular. Os pacientes podem necessitar de injeções repetidas, embora o intervalo seguro entre as injeções e a preparação ideal de esteroides ainda não tenha sido estabelecido (DOUGLAS, 2012). Injeções de esteróides devem ser usadas com cautela em pacientes diabéticos que já estão hiperglicêmicos. Todas as punções e injeções articulares devem ser realizadas com a técnica esterilizada adequada, conforme descrito nas diretrizes.

O acetaminofeno é recomendado para o manejo da osteoartrite, e seu uso é considerado apropriado em pacientes sem comorbidades relevantes (HOCHBERG *et al.*, 2012; MCALINDON *et al.*, 2014). Embora o paracetamol seja relativamente seguro, pode não proporcionar alívio substancial da dor como se esperava (AMERICAN GERIATRICS SOCIETY PANEL ON PHARMACOLOGICAL MANAGEMENT OF PERSISTENT PAIN IN OLDER PERSONS, 2009). Na situação de comprometimento hepático, o paracetamol é contraindicado.

O uso de analgésicos opioides são, geralmente, reservados para dor refratária em pacientes que falharam em outras modalidades de tratamento, e devem ser mantidos acompanhamento rigoroso e monitoramento. O seu uso em idosos pode representar um desafio devido à tolerabilidade, aumento do risco de queda, abstinência e constipação. Se os opióides não forem eficazes em alcançar uma redução substancial na dor no joelho causada pela OA, esses agentes devem ser descontinuados o mais rápido possível para minimizar a tolerância, a dependência e o potencial de efeitos colaterais adversos (O’NEIL; HANLON; MARCUM, 2012).

Além disso, várias formulações de nutracêuticos são comercializadas para o tratamento da dor no joelho. Os mais consumidos e mais conhecidos são os produtos de sulfato de glicosamina e condroitina. Esses dois compostos naturais são considerados como fármacos de ação lenta sintomática para a osteoartrite. Embora não haja evidência clara de que esses compostos são eficazes na redução e progressão da osteoartrite, em alguns casos, podem ajudar a melhorar a dor (CLEGG *et al.*, 2006; HERRERO-BEAUMONT *et al.*, 2007; SINGH *et al.*, 2015). Nesse contexto, devem ser considerados, especialmente, para o tratamento de pacientes idosos com OA com comorbidades que limitam a administração em longo prazo de drogas como AINEs orais e paracetamol.

Quando a terapia farmacológica não consegue aliviar a dor, a viscosuplementação (VS) pode ser uma opção. VS é um método terapêutico pelo qual uma solução viscoelástica é injetada no espaço intra-articular, a fim de substituir ou reforçar as propriedades bioquímicas e viscoelástica do líquido sinovial, e melhorar a funcionalidade da articulação. O AH foi o primeiro viscosuplemento aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA). Metanálises a respeito do uso de injeções de AH para dor na osteoartrite apresentam dados conflitantes devido à heterogeneidade nas preparações e à falta de ensaios duplo-cegos controlados. O alívio da dor é variável entre as diferentes formulações de AH. Os corticosteroides intra-articulares parecem ter melhor efeito em curto prazo do controle da dor, enquanto as injeções de AH podem melhorar o alívio da dor a partir da 8 semana (MARICAR *et al.*, 2013). O benefício residual potencial é relatado em até 24 semanas em alguns estudos (BERENBAUM *et al.*, 2012). Uma revisão sistemática da eficácia das injeções de AH em pacientes com osteoartrite degenerativa grave e idade média de 65 anos ou mais revelou uma melhora pequena, mas estatisticamente significativa, com poucos efeitos adversos graves (NEWBERRY *et al.*, 2015).

A cirurgia é indicada e deve ser considerada quando o paciente for refratário ao tratamento conservador por um período razoável (pelo menos três meses), e a qualidade de vida estiver, notavelmente, comprometida. Há uma variedade de intervenções cirúrgicas, escolhidas a depender do grau da degeneração, da condição geral do paciente e da preferência do cirurgião ortopédico. Técnicas menos invasivas, como lavagem artroscópica e desbridamento, são aplicadas a fim de remover detritos, enzimas e mediadores inflamatórios. No entanto, um ensaio randomizado, controlado por placebo, demonstrou que essa técnica não são melhores do que o tratamento com placebo (MOSELEY *et al.*, 2002). Atualmente, esse procedimento caiu em desuso. Se a OA for limitada a apenas um compartimento da articulação do joelho, técnicas cirúrgicas envolvendo artroplastia unicompartimental do joelho ou osteotomia sem descarga podem ser consideradas. O objetivo de uma osteotomia é transferir a carga de peso do compartimento danificado para áreas não lesadas, retardando a necessidade de artroplastia articular. Esse procedimento deve ser considerado em pacientes jovens e ativos (LOIA *et al.*, 2016; ZUIDERBAAN *et al.*, 2016). Em pacientes selecionados com OA isolada medial, lateral ou patelo-femoral, a artroplastia unicompartimental do joelho ou a substituição patelo-femoral também pode ser alternativa bem sucedida (LÜTZNER *et al.*, 2009; MADUEKWE *et al.*, 2010).

Nos casos com OA grave e avançada do joelho, a ATJ é, atualmente, a única opção para resolver a dor e melhorar a função de forma duradoura. Atualmente, a ATJ tornou-se um tratamento que proporciona alívio da dor e tem uma taxa de complicação de 1% a 2%. A cirurgia de substituição do joelho é altamente bem-sucedida, com boa evidência de sucesso para o tratamento e sobrevida em longo prazo do implante. No entanto, 20% dos pacientes estão insatisfeitos com o resultado da cirurgia (BESWICK *et al.*, 2012). Mudanças contínuas no desenho do implante não parecem ter alcançado nenhuma melhoria substancial em relação ao resultado para os pacientes, e o foco poderia mudar para o uso de alternativas para a substituição total do joelho (CARR *et al.*, 2012). Abordar essa questão é o maior desafio, particularmente, devido ao aumento do número de pacientes mais jovens submetidos à cirurgia.

* 1. TERAPIA CELULAR PARA O TRATAMENTO DA OA

O desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas com potenciais efeitos modificadores da doença, como terapias baseadas em células, pode torná-las uma alternativa viável para o tratamento da OA do joelho. Entre as terapias celulares, o uso de CTMs, extraídas da medula óssea, está em ascensão para o tratamento conservador da OA (MORONI; FORNASARI, 2013). As CTMs são células multipotentes com alta capacidade de autorrenovação, que apresentam potencial condrogênico e potentes características imunossupressoras. É imperativo melhorar nosso entendimento das áreas conhecidas e desconhecidas, relacionadas a esses produtos biológicos, com uma necessidade específica de fornecer ensaios clínicos de alta qualidade e acompanhamento em longo prazo.

A medula óssea autóloga, coletada por meio do Aspirado da Medula Óssea (AMO) tem sido uma das fontes mais utilizadas para terapias celulares. A simplicidade de obtenção do AMO faz dele uma abordagem atraente e prática. Uma vantagem fundamental dessa técnica refere-se ao fato de que, quando aspirada, oferece uma única suspensão celular que pode ser facilmente processada (JÄGER *et al.*, 2010; MUSCHLER; BOEHK; EASLEY, 1997). Outras fontes celulares, como tecido adiposo ou sinóvia, requerem processamento em várias etapas, como dissociação mecânica e digestão enzimática. Além disso, a capacidade de diferenciação condrogênica e osteogênica de CTMs derivadas da Medula Óssea (CTM-MO) foram mais eficientes em comparação à CTMs derivadas do Tecido Adiposo (CTM-AD), bem como CTMs derivados de cordão umbilical (CTM-CU) (ZUK *et al.*, 2002). Um estudo comparou a capacidade de diferenciação condrogênica entre CTM-MO e CTM-AD humanas que foram obtidas dos mesmos doadores (AFIZAH *et al.*, 2007). CTM-MO demonstraram ser mais eficientes do que CTM-AD após análise quantitativa e qualitativa da expressão de genes e proteínas relacionadas com a cartilagem (YEN *et al.*, 2005). As CTM-MO podem, assim, ser o tipo de célula ideal para terapias baseadas em células para regeneração de cartilagem, uma vez que demonstraram ser seguras com baixa incidência de efeitos colaterais sistêmicos ou específicos do local (GUPTA *et al.*, 2012; ZHENG *et al.*, 2013).

O papel dessas células, quando injetadas no joelho de um paciente, ainda não está claro. É necessário melhorar nosso entendimento dos mecanismos pelo qual as terapias celulares derivadas da medula óssea agem. Por mais de três décadas, a justificativa para o uso de CTMs, em aplicações musculoesqueléticas, tem sido sua capacidade de se diferenciar em tipos de células específicas do tecido, tais como células semelhantes a osteoblastos, condrócitos e tenócitos. Em condições fisiológicas, as CTMs residem no nicho perivascular em uma condição quiescente até que os sinais liberados, após uma lesão, ativam sua migração para o local danificado, promovendo a produção de moléculas bioativas para restabelecer a homeostase do tecido (CRISAN *et al.*, 2008). Por essa razão, eles foram recentemente renomeados como “células de sinalização medicinal” (CAPLAN, 2016, 2015, 2010). Como resultado, a atividade parácrina das CTMs estaria envolvida no reparo produtivo, desligando a inflamação, limitando a resposta ao estresse e a apoptose, e recrutando as células imunológicas e reparadoras do receptor. Alguns estudos relatam, claramente, uma influência da atividade parácrina das CTMs sobre a inflamação e o turnover da matriz na OA, em que a presença de um ambiente pró-inflamatório foi sugerida como o alternador para promover os efeitos anti-inflamatórios das CTMs (BARRY; MURPHY, 2013; DE GIROLAMO *et al.*, 2016; FILARDO *et al.*, 2013).

A Sociedade Internacional para Terapia Celular propôs critérios mínimos para definir CTMs humanas: a) as células devem aderir ao plástico em condições de cultura padrão usando frascos de cultura de tecidos; b) mais de 95% da população de células devem expressar CD105, CD73 e CD90, mas deve não ter expressão (<2% positiva) de CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e classe II do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) que são expressas nos leucócitos, células endoteliais e trombócitos; e c) as células devem ser capazes de se diferenciar *in vitro* em adipócitos, osteoblastos e condrócitos sob condições indutoras *in vitro* padrão (DOMINICI *et al.*, 2006).

Além do potencial condrogênico de CTMs, também demonstrou-se que elas possuem amplas habilidades imunorreguladoras e são capazes de suprimir células imunes que desempenham papel patogênico importante para o desenvolvimento e progressão da OA. As CTMs inibem a ativação de macrófagos inflamatórios M1 e promovem sua conversão em anti-inflamatório, o fenótipo M2; atenuam a proliferação e citotoxicidade das células NK, impedem a ativação de células B autorreativas e produção de anticorpos autorreativos, suprimem a ativação de células inflamatórias CD4 + Th1 e promovem a geração de células reguladoras CD4 + T imunossupressoras (Tregs), permitindo a atenuação da inflamação e promovem a regeneração da cartilagem (DALTRO *et al*., 2020). As CTMs exógenas injetadas na articulação secretam citocinas que interagem com o receptor CD44 em macrófagos para diminuir a secreção de mediadores inflamatórios (óxido nítrico, TNF-α e IL-1) (CHOI *et al.*, 2011; MELIEF *et al.*, 2013; NÉMETH *et al.*, 2009). O antagonista do receptor da interleucina 1 (IL-1Ra), derivado das CTMs, tem um importante papel anti-inflamatório na proteção e regeneração da cartilagem. Quando o IL-1Ra se liga ao receptor de IL-1 (IL-1R), a interação entre IL-1 e IL-1R inflamatória é evitada. Consequentemente, a apoptose de condrócitos, bem como vários eventos pró-inflamatórios, incluindo a síntese e liberação de enzimas que degradam a matriz são inibidas (KOENDERS *et al.*, 2005). Mecanismos moleculares, envolvidos na regeneração baseada em CTMs de cartilagem lesada, e atenuação da inflamação articular foram confirmados *in vivo*, em modelos animais de OA (FUTAMI *et al.*, 2012; KURTH *et al.*, 2011).

Até o momento, alguns ensaios clínicos foram realizados para avaliar a eficácia das CTMs na terapia da OA. Emadedin *et al.* (2018) demonstraram segurança e eficácia de um único implante intra-articular CTMs autólogas em 19 pacientes com OA de joelho. Não houve efeitos adversos atribuídos à terapia com CTMs durante os seis meses de acompanhamento. Pacientes com OA tratados com CTMs experimentaram alívio significativo e clinicamente relevante da dor, acompanhado de melhorias notáveis ​​na função física, conforme determinado pelo escore total do *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis* (WOMAC).

É importante ressaltar que vários estudos demonstraram efeitos benéficos da terapia baseada em CTM-MO, relativa ao tratamento de pacientes com OA com doença grave que não respondiam à terapia padrão (DAVATCHI *et al.*, 2016; OROZCO *et al.*, 2013). Doze pacientes com dor crônica no joelho e evidência radiológica de OA grave, que não respondiam à terapia conservadora, receberam intra-articularmente CTM-MO autólogas. Diminuição significativa das áreas degeneradas de cartilagem com melhora da qualidade da cartilagem foi observada em 11 dos 12 pacientes com osteoartrite tratada com OA que exibiam melhora rápida e progressiva da função do joelho (OROZCO *et al.*, 2013). Resultados semelhantes foram observados em outro estudo, em que 4 pacientes com OA avançada receberam CTM-MO autólogas intra-articular em ambos os joelhos (DAVATCHI *et al.*, 2016). Todos os parâmetros monitorados (tempo de caminhada, subir escada, dor gelatinosa, crepitação da patela, contratura de flexão e escore visual analógico de dor) melhoraram, significativamente, em ambos os joelhos, 6 meses após a injeção. Em relação ao acompanhamento, os parâmetros começaram, gradualmente, a se deteriorar, mas, 5 anos após o procedimento, eles, ainda, eram melhores do que previamente ao tratamento, confirmando o potencial terapêutico das CTMs no tratamento da OA avançada.

Outros dois estudos demonstraram que o tratamento com CTM-MO permitiu um aumento na espessura da cartilagem e extensão do tecido de reparo sobre o osso subcondral, bem como uma melhora significativa no WOMAC até 30 meses. Essas melhorias permaneceram estáveis ​​até 03 meses de seguimento com consequente diminuição dos efeitos, sugerindo que injeções subsequentes de CTMs podem ser necessárias para se obter eficácia terapêutica prolongada (EMADEDIN *et al.*, 2015, 2012). A aplicação de CTM-MO mostrou-se uma opção segura em um estudo de longo prazo, com 10 anos de acompanhamento, incluindo mais de 40 pacientes. Nem teratomas nem complicações infecciosas foram observados (WAKITANI *et al.*, 2011). No entanto, a avaliação clínica eficaz e a otimização das terapias celulares exigirão metodologia de alta qualidade em ensaios clínicos, com atenção especial aos métodos quantitativos para coleta, processamento, caracterização, distribuição e padronização de resultados clínicos.

1. **OBJETIVO**

Avaliar a segurança do transplante autólogo subcondral de Células Mononucleares da Medula Óssea e sua eficácia no tratamento de pacientes com graus iniciais de osteoartrite do joelho, por meio da avaliação clínica funcional e radiológica.

1. **MATERIAL E MÉTODOS**

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Ensaio clínico observacional, longitudinal, prospectivo com 13 pacientes.

4.2 SELEÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Os pacientes atendidos no Hospital Universitário Edgard Santos, com OA idiopática inicial do joelho, foram convidados a participar do estudo. Como critérios de inclusão foram considerados dor moderada a grave há, no mínimo, 6 meses, não responsiva a, pelo menos, duas terapias convencionais (injeções locais de esteroides, VS viscossuplementação, drogas AINEs, fisioterapia, acupuntura, modificações no estilo de vida) e presença de OA grau II ou III de *Kellgren-Lawrence* nas radiografias ântero-posterior e lateral do joelho em ortostase. Foram excluidos dessa casuística os pacientes com perda da função da articulação em consequência de OA secundária a doenças reumatológicas inflamatórias, necrose óssea, injeções intra-articulares repetidas de cortisona, traumas, doenças congênitas do esqueleto, doenças metabólicas e endócrinas. Foram excluídos, também, pacientes com idade inferior a 30 anos ou superior a 60 anos, com IMC maior que 35, que foram submetidos a qualquer tratamento com injeções intra-articulares no joelho nos últimos 3 meses, com desvio importante do alinhamento do mecânico dos membros inferiores (maior do que 8 graus), com lesões ligamentares do joelho observadas na RM, com antecedente de cirurgia no joelho, que apresentavam classificação radiográfica de OA *Kellgren-Lawrence* superior ao grau 3 ou com qualquer outra comorbidade que, a critério do investigador principal, impossibilitasse a inclusão do paciente no estudo.

4.3 TAMANHO DA AMOSTRA

Foi conduzido cálculo amostral para estimar amostra adequada para atingir um poder de 80% com nível de significância de 5%. A hipótese testada é que a intervenção causará uma melhora no parâmetro de dor do *score* KOOS de 10 pontos com desvio padrão de 12. A análise indicou um mínimo de 14 pacientes, considerando-se uma perda de 10%.

4.4 PLANO DE RECRUTAMENTO

O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia, número CAAE: 11378019.9.0000.0049.

Os pacientes foram identificados e selecionados pelos ortopedistas investigadores desse projeto, durante sua rotina assistencial. Após verificação dos critérios de inclusão e exclusão, os pacientes foram convidados a participar do estudo e receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para leitura, retirada de dúvidas com os investigadores e posterior assinatura, caso concordassem em participar. Os pacientes selecionados foram encaminhados para o centro de ortopedia do Hospital Universitário para serem incluídos no protocolo de pesquisa.

4.5 PLANO DE ACOMPANHAMENTO

Foram coletadas informações sobre comorbidades, IMC e dados demográficos dos participantes. Foram solicitados como exames iniciais: radiografias nas incidências ântero-posterior com carga e perfil, e RM do joelho acometido pela doença. Os exames foram repetidos com 12 meses de pós-operatório. As visitas de acompanhamento iniciaram uma semana antes do procedimento, com seguimento em 3 semana, 3 meses, 6 meses e 12 meses após o procedimento, pela equipe de ortopedia. Os pacientes, também, foram submetidos à avaliação clínica segundo o KOOS, WOMAC, questionário de qualidade de vida SF-36 e pela Escala Visual Analógica de Dor (EVA).

A morbidade perioperatória, complicações e segurança do procedimento foram avaliadas, clinicamente, em todas as visitas de seguimento. Complicações médicas agudas foram avaliadas durante os primeiros 30 dias após a cirurgia. As complicações adicionais dos procedimentos, também, incluíram transfusões, trombose venosa profunda e embolia pulmonar.

4.6 IMAGEM

As alterações da cartilagem articular foram avaliadas no início do estudo e no acompanhamento final, aos 12 meses, por meio de exames de RM. Muitos sistemas de classificação existem para a avaliação das articulações por RM. Para este estudo, utilizou-se um sistema de pontuação para quantificação de lesões de cartilagem (*CaLS*), especificamente projetado para acompanhamento longitudinal de imagens de RM na OA do joelho. Esse escore tem boa reprodutibilidade e demonstrou excelente detecção da progressão do defeito da cartilagem (ALIZAI *et al.*, 2014). Utilizando uma versão modificada desse sistema, foram avaliadas 4 zonas distintas de medidas de cartilagem articular baseadas em RM (ECKSTEIN *et al.*, 2006): côndilo femoral medial central, côndilo femoral lateral central, platô tibial medial central, platô tibial lateral central. A análise paramétrica da cartilagem na RM foi realizada no início do estudo (antes do tratamento) e repetida com 12 meses após intervenção cirúrgica.

Todos os exames foram realizados no mesmo aparelho de RM de 1,5-T. As imagens dos participantes foram coletadas e transferidas para um *software* e revisadas ​​por um único radiologista musculoesquelético treinado, utilizando *software* de pós-processamento.

4.7 TÉCNICA OPERATÓRIA

O AMO foi obtido na crista ilíaca posterior do paciente, sob raquianestesia e sedação leve por meio de agulha/trocarte de Jamshid. A agulha foi introduzida cerca de 6 cm de profundidade em direção ao osso esponjoso da crista ilíaca de modo que a sua ponta se situasse entre as mesas interna e externa. Cerca de 100 ml de medula óssea foram obtidos com uso de seringas de plástico de 10 ml contendo heparina, que foram preenchidas com volume máximo de 5 ml cada, para reduzir o grau de diluição pelo sangue periférico. Quando, após a perfuração do osso, nenhum aspirado de medula era obtido, a seringa era reorientada e a aspiração repetida. Se a ausência de aspirado persistir, o local de inserção da agulha será mudado para outro sítio. Onde a medula for aspirada com êxito, a agulha foi, apenas, deslocada em torno de um eixo de 45° durante sucessivas aspirações para reorientar o bisel, proporcionando assim a aspiração do maior espaço possível.

Após uma volta completa, a agulha foi retirada 1 centímetro em direção à superfície por meio do mesmo sítio de inserção, e aspirações sucessivas foram iniciadas, com a agulha sempre movendo-se no eixo de 45° a cada aspiração. Três a cinco perfurações foram feitas na crista ilíaca, por meio da mesma abertura na pele, com as perfurações espaçadas cerca de 2 cm umas das outras para evitar a diluição por aspiração da região anterior. Todas as seringas contendo os aspirados de medula foram agrupadas em grau cirúrgico estéril e acondicionadas em caixa de isopor com gelo com temperatura controlada por termômetro, variando de no mínimo 4oC a no máximo 10oC. A medula óssea aspirada foi processada, diretamente, na sala de cirurgia, removendo a maioria dos eritrócitos e plasma. Um separador de células (SEPAX, Biosafe, Suíça), constituído por uma centrífuga e um dispositivo de dupla câmara descartável, forneceu o concentrado contendo CMMO após sessenta minutos de centrifugação múltipla, de acordo com as recomendações do fabricante. Com o paciente, ainda, em decúbito dorsal, uma agulha medular de 3 mm foi inserida no centro das epífises do fêmur e da tíbia, sob orientação fluoroscópica, por meio de procedimento minimamente invasivo. Uma amostra de medula óssea dessas regiões foi aspirada com uso de uma seringas de plástico de 10 ml contendo heparina para análise da Frequência de Células-tronco Hematopoéticas (CTH) e células progenitoras presentes. Em seguida, o concentrado contendo CMMO foi transferido para uma seringa de 20 mL e transplantado por abordagem percutânea com agulha até a área desejada do osso subcondral na região epifisária. Cada paciente recebeu, apenas, uma injeção do tratamento proposto no joelho estudado. Uma pequena fração do concentrado contendo CMMO foi separada para citometria de fluxo, viabilidade celular e ensaios microbiológicos (Figura 1).

Figura 1 – fotografías das etapas do procedimiento cirúrgico



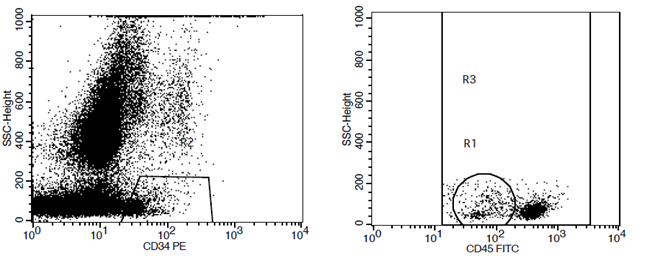
**1 A** – Punção para coleta do aspirado de medula óssea foi obtido na crista ilíaca posterior do paciente **1B-** O CMMO sendo injetado por abordagem percutânea com agulha até a área desejada do osso subcondral na região epifisária **1C-** sob orientação fluoroscópica, a agulha sendo introduzida na área desejada do osso subcondral na região epifisária da tíbia **1D-** Introdução de agulha na área desejada do osso subcondral na região epifisária do fémur

Fonte: Arquivo prórpio, 2020.

4.8 CARACTERIZAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS (CD34 + CD45LOW)

A CTH e células progenitoras pode ser considerada por análise de células CD34+/CD45low. Para tanto, os aspirados da medula óssea da crista iliaca e epifisárias do femur e da tibia foram submetidos à marcação e análise de CD34+/CD45low. Utilizou-se um coquetel de anticorpo contendo, anticorpo anti-CD34 (PE, Clone 581, IgG1 κ de camundongo, Exbio), anticorpo anti-CD45 (FITC, Clone 2D1, IgG1 κ de camundongo, Exbio) e 7-Aminoactinomicina-D (7-AAD, BD Pharmingen) foi adicionado em tubos de fundo redondo de 5 mL, imediatamente antes do uso. Cem microlitros de amostra de AMO foram adicionados a cada tubo e incubados por 20 minutos no escuro em temperatura ambiente. Os glóbulos vermelhos (RBCs) foram lisados (*Excelllyse Easy; Exbio*), seguidos por 10 minutos de incubação no escuro à temperatura ambiente. Os dados da citometria de fluxo foram adquiridos em um citômetro de fluxo (*BD FACS Calibur Flow Cytometer*, *BD Biosciences*, Brasil) e a análise foi realizada por meio *software* *Cell Quest* (*BD Biosciences*) (figura 2).

Figura 2: *dot plots* representativos da estratégia de seleção para células progenitoras.



**A)**

**B)**

**A)** *Dot plot* de morfologia (granulosidade – SSC), ao qual a população de células CD34+ foi selecionada. **B)** *Dot plot* de granulosidade das células CD34+ selecionadas, na qual a população de células CD45low foi selecionada

Fonte: Arquivo prórpio, 2020.

4.9 PLANO DE ANÁLISE DOS DADOS

Para a análise descritiva, as variáveis quantitativas foram representadas por suas médias e desvios-padrão quando suas distribuições eram normais e por medianas e intervalos interquartis quando não normais e com *outliers* relevantes. As variáveis categóricas foram representadas por meio de frequências e porcentagens.

Os desfechos foram comparados ao longo do tempo por meio de ANOVA de medidas repetidas, seguidos de análise definida *a priori* para determinar, com referência à avaliação pré-intervenção (T0), quais variações eram estatisticamente significantes.

As análises foram realizadas com base no Princípio da Intenção de Tratar. Valores de p < 0,05 foram considerados significativos; todos os testes foram bicaudais. As análises foram conduzidas com o *software* *IBM Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS ®, Chicago, IL, EUA) 21.0.

1. **RESULTADOS**

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES

Um total de 18 pacientes foram considerados elegíveis para participar deste estudo, e 13 pacientes (69,2%) foram finalmente selecionados (Figura 3). Dos cinco pacientes excluídos, dois se recusaram a participar, dois apresentaram OA secundária à osteonecrose por uso de corticoide e um por ter sido submetido à meniscectomia prévia. Todos os pacientes selecionados não responderam ao tratamento conservador por, pelo menos, 6 meses.

Figura 3 – Desenho esquemático da metodologia de seleção dos participantes do estudo

18 pacientes foram considerados elegíveis

05 pacientes foram excluídos:

-03 não preencheram os critérios de inclusão;

-02 desistiram de participar do estudo

13 pacientes foram selecionados para receber o transplante autólogo de CMO

Fonte: Autoria própria, 2020

A idade dos pacientes selecionados para o estudo no momento em que foi realizado o procedimento de infiltração era de 43-57 anos com idade média de 51,5 anos. Nove dos 13 indivíduos eram mulheres. Oito relataram sintomas dominantes no joelho esquerdo e 7 no joelho direito. O IMC médio (± desvio padrão) para participantes foi de 29,5 kg ± 2,9 kg / m2. Dez pacientes (76,9%) foram diagnosticados com OA II e 3 (23,1%) foram diagnosticados com OA III, de acordo com a escala de *Kellgren e Lawrence* no momento inicial do estudo (Tabela 2).

# Tabela 2 – Características epidemiológicas e clínicas da amostra

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Característica** | | **Geral (n = 13)** |
| **Sexo** | | |
| Feminino | | 9 (69,2) |
| Masculino | | 4 (30,8) |
| **Idade**  Média ± desvio-padrão | | 51,5 ± 4,5 |
| **IMC**  Média ± desvio-padrão | | 29,5 ± 2,9 |
| **Lateralidade** | | |
| Direita | | 5 (38,5) |
| Esquerda | | 8 (61,5) |
| **Avaliação radiográfica (*Kellgren Lawrence*)** | | |
| 2 | | 10 (76.9) |
| 3 | | 3 (23.1) |
| **Avaliação RM \*** | | |
| Côndilo femoral lateral | 8 (61.5) | |
| Côndilo femoral medial | 11 (84.6) | |
| Platô tibial medial | | 11 (84.6) |
| Platô tibial lateral | | 8 (61.5) |

\* N (%) de paciente com lesão em cada compartimento.  
 Todos os dados são apresentados como n (%), exceto se especificado.

Fonte: Autoria prórpia, 2020.

5.2 CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE CELULAR

Após a obtenção de uma amostra homogênea, viável, e realizada a estratégia de seleção para identificação e seleção de células CD34+/45low em busca de células-tronco pluripotentes, foram comparadas os aspirados da medula da porção distal do fêmur e da crista ilíaca (Tabela 3). Em geral, os marcadores de identificação de células progenitoras tiveram maior frequência no AMO da crista ilíaca em comparação com as amostras da porção distal do fêmur. Os valores encontrados para a crista ilíaca indicam a maior frequência de CTH, sugerindo que, por esse parâmetro, o seu uso é mais indicado na terapia celular, utilizando-se o AMO da crista ilíaca. Além disso, percebemos que os pacientes com AO de joelho possuem no AMO da crista ilíaca células progenitoras que podem ser importantes mediadores na terapia celular.

Tabela 3 *–* Frequências de fenótipo de células-tronco hematopoiéticas

progenitoras são aumentadas na crista ilíaca

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Idade | **50,92 (35 - 57) anos** |  |
| Sexo Feminino | 9 |  |
| CD34+/45low Crista Ilíaca | 0,67 (0,20 - 1,35) % |  |
| CD34+/45low Joelho | 0,05 (0,06 - 0,27)% |  |

Valores apresentados em Mediana (min-máx).

Fonte: Autoria prórpia, 2020

5.3 EVOLUÇÃO DA DOR, FUNÇÃO E QUALIDADE DE VIDA

A melhora significativa na EVA para dor na atividade diária já foi detectada na terceira semana após o procedimento e durou até o final do período de estudo. A melhora máxima foi observada em 3 meses após a infusão de CMMO (figura 4). Com base nesse ponto, o impacto da terapia na EVA foi diminuindo, progressivamente, até ao final do período de acompanhamento, mas manteve-se sempre acima do ponto inicial. Todos os pacientes ficaram satisfeitos com o tratamento e relataram alívio duradouro da dor durante o período de observação de 1 ano.

Na tabela 4, resumem-se os resultados das medidas de desfecho primárias e secundárias para toda a amostra que concluiu o estudo. A análise do desfecho primário (como a diminuição da dor no joelho, desde o início até 12 meses, de acordo com o questionário KOOS) mostrou uma melhora estatisticamente significativa na redução da dor de 17.7 ± 22.2 pontos doze meses após o tratamento (𝑝 = 0,014). Em relação aos resultados secundários, também houve uma melhora estatisticamente significativa em todas as outras áreas do KOOS, assim como no WOMAC (figura 5 e 6).

Tabela 4 – Resultados clínicos ao longo do período (N = 13)

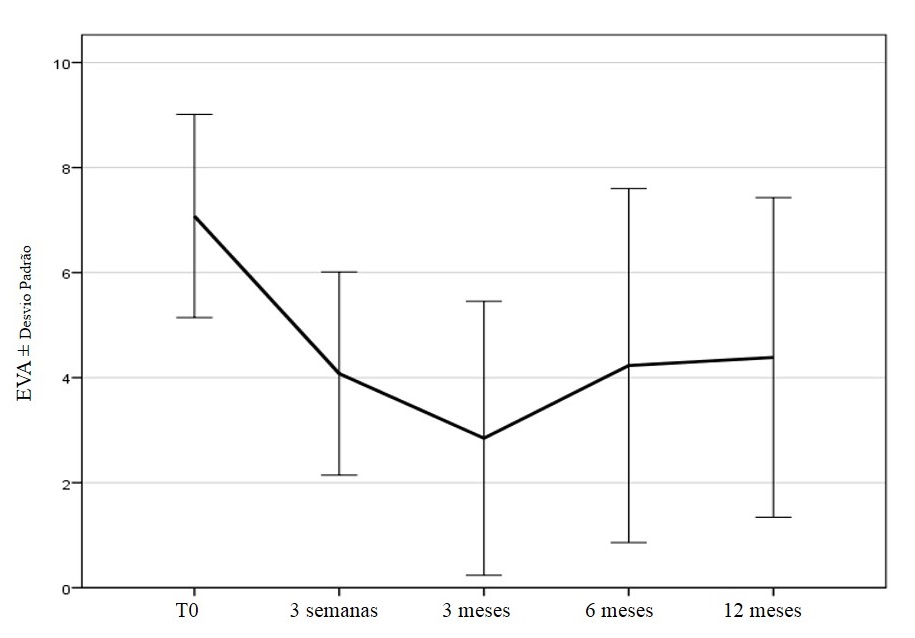
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Linha de base** | **3 semanas** | | **3 meses** | | **6 meses** | | **12 meses** | | **RM- ANOVA** |
|  | **ΔT3w-TO** | **p valor** | **ΔT3m-TO** | **p valor** | **ΔT6m-TO** | **p valor** | **ΔT12m-TO** | **p valor** |
| **EVA** | 7.1 ± 1.9 | -3.0 ± 2.7 | 0.002 | -4.2 ± 2.4 | < 0.0005 | -2.8 ± 3.5 | 0.012 | -2.7 ± 3.2 | 0.010 | 0.001 |
| **KOSS** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Dor | 48.5 ± 24.5 | 27.8 ± 31.2 | 0.007 | 29.3 ± 21.7 | < 0.0005 | 23.1 ± 22.5 | 0.003 | 17.7 ± 22.2 | 0.014 | 0.001 |
| Sintoma | 55.5 ± 21.5 | 24.7 ± 22.3 | 0.002 | 26.1 ± 18.9 | < 0.0005 | 17.0 ± 24.2 | 0.026 | 8.5 ± 20.8 | 0.166 | < 0.0005 |
| AVD | 46.8 ± 28.9 | 29.0 ± 29.7 | 0.004 | 33.3 ± 22.0 | < 0.0005 | 23.9 ± 25.9 | 0.006 | 17.8 ± 25.1 | 0.026 | < 0.0005 |
| AEL | 20.8 ± 19.8 | 24.6 ± 32.3 | 0.018 | 43.8 ± 26.6 | < 0.0005 | 31.2 ± 26.2 | 0.001 | 26.5 ± 24.6 | 0.002 | < 0.0005 |
| QV | 16.9 ± 17.0 | 20.2 ± 19.1 | 0.002 | 39.9 ± 27.8 | < 0.0005 | 35.6 ± 27.3 | 0.001 | 25.5 ± 26.0 | 0.004 | < 0.0005 |
| **WOMAC** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Dor | 51.2 ± 29.1 | -28.8 ± 36.2 | 0.014 | -31.9 ± 24.2 | < 0.0005 | -26.5 ± 24.0 | 0.002 | -21.2 ± 24.8 | 0.010 | 0.002 |
| Rigidez | 43.3 ± 28.2 | -23.1 ± 36.4 | 0.041 | -26.9 ± 26.9 | 0.004 | -18.3 ± 27.3 | 0.033 | -9.6 ± 24.0 | 0.175 | 0.009 |
| AF | 53.2 ± 28.9 | -29.0 ± 29.7 | 0.004 | -33.3 ± 22.0 | < 0.0005 | -23.9 ± 25.9 | 0.006 | -17.8 ± 25.1 | 0.026 | < 0.0005 |
| Total | 51.9 ± 28.0 | -28.4 ± 30.3 | 0.005 | -32.5 ± 21.6 | < 0.0005 | -24.0 ± 24.4 | 0.004 | -17.8 ± 23.5 | 0.018 | < 0.0005 |
| **SF36** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Função Física. | 31.2 ± 22.1 | 15.0 ± 29.6 | 0.092 | 26.2 ± 23.4 | 0.002 | 23.8 ± 27.0 | 0.008 | 21.2 ± 45.3 | 0.118 | 0.007 |
| LF físico | 15.4 ± 31.5 | 9.6 ± 49.5 | 0.497 | 28.8 ± 43.1 | 0.033 | 25.0 ± 42.1 | 0.053 | 23.1 ± 55.4 | 0.159 | 0.067 |
| Dor Corporal | 27.2 ± 24.6 | 17.2 ± 33.0 | 0.085 | 28.4 ± 30.3 | 0.005 | 24.6 ± 28.9 | 0.010 | 9.1 ± 41.1 | 0.441 | 0.068 |
| Saúde Geral | 42.8 ± 27.0 | 11.5 ± 21.9 | 0.083 | 16.8 ± 23.6 | 0.025 | 21.2 ± 23.1 | 0.006 | 8.6 ± 32.0 | 0.350 | 0.009 |
| Vitalidade | 48.1 ± 24.1 | 7.7 ± 18.0 | 0.149 | 13.8 ± 19.7 | 0.026 | 17.3 ± 20.7 | 0.011 | 8.5 ± 45.2 | 0.512 | 0.070 |
| Função Social | 63.5 ± 29.5 | -4.8 ± 29.6 | 0.568 | 13.5 ± 26.7 | 0.095 | 11.5 ± 26.3 | 0.139 | -4.8 ± 53.9 | 0.753 | 0.205 |
| LF emocional | 30.8 ± 48.0 | 5.4 ± 48.8 | 0.695 | 28.2 ± 59.1 | 0.111 | 23.1 ± 65.8 | 0.230 | 10.6 ± 75.8 | 0.624 | 0.324 |
| Saúde Mental | 64.6 ± 24.4 | 1.2 ± 15.7 | 0.782 | 1.5 ± 19.8 | 0.784 | 2.2 ± 22.1 | 0.732 | -2.8 ± 38.8 | 0.801 | 0.926 |

Todos os dados apresentados como média ± desvio padrão, salvo especificação em contrário. Legenda: EVA: Escala Visual Analógica; AVD: Atividade de Vida Diária; AEL: Atividade Esportiva e de Lazer; QV: Qualidade de Vida;AF: Atividade Física; LF: Limite Funcional/ RM-ANOVA: Medidas Repetidas ANOVA – Estatisticamente significativo se p < 0.05

Fonte: Autoria própria, 2020.

Quanto aos escores do questionário de qualidade de vida SF-36, houve uma melhora importante nas escalas de dor corporal, função física e funcionamento físico (figura 7). No entanto, nenhuma mudança significativa foi observada ao final dos 12 meses de acompanhamento para funções sociais ou saúde mental. Na verdade, os valores relativamente altos desses dois testes no início do estudo podem indicar sua baixa relevância em pacientes com OA de joelho (tabela 4).

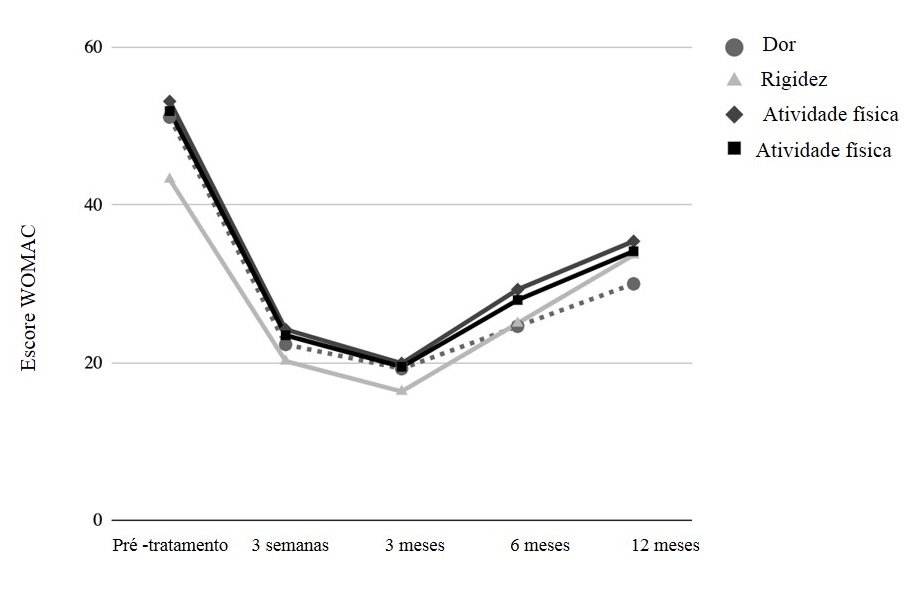
### Figura 4 – Evolução do EVA ao longo do tempo de acompanhamento

****

EVA=Escala Visual Analógica

Fonte: Autoria própria, 2020

### Figura 5 – Evolução dos domínios do escore WOMAC ao longo do tempo de acompanhamento

****

WOMAC= *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis*

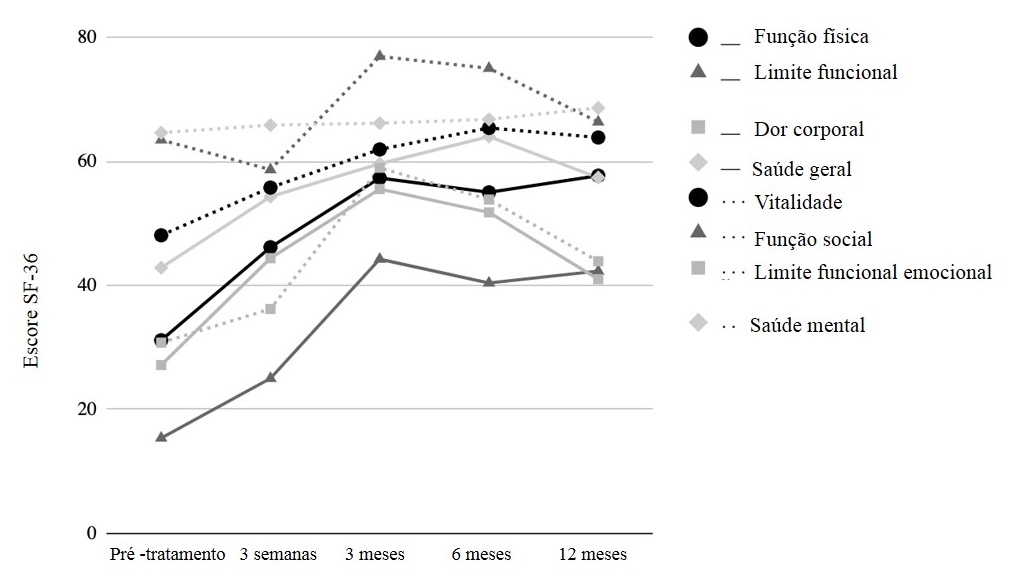
Fonte: Autoria própria, 2020

### Figura 6 – Evolução dos domínios do escore KOOS ao longo do tempo de acompanhamento**C:\Users\Labmicro1\Desktop\lene\Figura 6.jpg**

KOOS= *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score*

Fonte: Autoria própria, 2020

### Figure 7 – Evolução dos domínios do escore do questionário de qualidade de vida SF-36 ao longo do tempo de acompanhamento



Fonte: Autoria própria, 2020

5.4 EVENTOS ADVERSOS

Com relação à segurança do resultado, o procedimento foi bem tolerado pelos pacientes. Não houve complicações ou eventos adversos graves. Todos os participantes conseguiam deambular, sem apoio adicional, no dia seguinte ao procedimento. Três pacientes relataram dor local transitória leve e desconforto no joelho injetado durante os primeiros 1 a 6 dias, e foram adequadamente controlados com paracetamol e crioterapia local. Nenhuma infecção na articulação ou pele foi detectada em qualquer paciente. Nenhum participante exigiu procedimentos adicionais durante o acompanhamento.

5.5 IMAGEM

Evolução RM pelo sistema de pontuação para quantificação de lesões de cartilagem (*CaLS*): 10 (76,9%) pacientes mantiveram o mesmo aspecto radiológico da lesão após 12 meses do procedimento. Durante o mesmo período, 2 (15,4%) pacientes apresentaram melhora parcial da lesão cartilaginosa em, pelo menos, 1 compartimento estudado. Um paciente (7,7%) apresentou regressão total da lesão em 1 compartimento.

1. **DISCUSSÃO**

A AO do joelho é uma doença crônica que é fundamentalmente caracterizada por dor, inflamação local e degeneração da cartilagem. A fisiopatologia da OA do joelho é pouco entendida,, mas é amplamente acreditado como sendo causado por múltiplos fatores incluindo genética, epigenética e biomecânicos. Evidências recentes sugerem que o osso subcondral pode estar envolvido no desenvolvimento da OA e que o osso subcondral e a cartilagem sobrejacente são funcionalmente unidos por meio da distribuição de cargas nas articulações ou pela troca de moléculas de sinalização. O osso subcondral desempenha três papéis importantes; o papel nutricional, o papel de compartilhamento de carga e como fornecedor de células mesenquimais e fatores de crescimento. Nos pacientes com OA, o osso subcondral sofre alterações que incluem microfissuras e defeitos estruturais, vascularização dos canais e uma substituição progressiva da medula óssea por alterações fibroneurovasculares do tecido mesenquimal interferindo na comunicação e transporte de fatores de crescimento entre as camadas mais profundas do osso subcondral e da cartilagem sobrejacente. Se o osso subcondral não for saudável, a cartilagem sobrejacente logo ficará desidratada e se separará do osso (TAT *et al.*, 2010; RADIN; ROSE, 1986).

Na OA, as perturbações na quantidade e função das CTMs podem levar à remodelação óssea anormal, que pode afetar a cartilagem sobreposta. As CTMs presentes no osso subcondral são importantes para o reparo e remodelamento ósseo em virtude de serem precursores dos osteoblastos (KARSDAL *et al.*, 2014). Os osteoblastos do osso subcondral alterado são capazes de mudar o perfil dos condrócitos em direção a um fenótipo catabólico e antianabólico, demonstrado pela diminuição da síntese de agrecan (espécie predominante de proteoglicana), mas também por uma regulação positiva na produção de enzimas metaloproteinases, responsável pela degradação do colágeno. (GOLDRING; GOLDRING, 2010). Portanto, intervenções terapêuticas minimamente invasivas como o transplante autólogo de CMMO da crista ilíaca injetado diretamente no osso subcondral tem potencial de corrigir essa deficiência de CTMs locais. Uma vez injetada nesse tecido, essas células são capazes de liberar fatores de crescimento com propriedades reparativas, e, que auxiliam na cicatrização, diminuem a inflação local e provocam um efeito analgésico local.

O nosso grupo possui uma vasta experiência com a utilização do transplante autólogo de CMMO em outras doenças osteomusculares com bons resultados (DALTRO *et al.*, 2018b, 2015). Nesta seção, apresentamos um estudo fase I / II de 13 pacientes que foram acompanhados, clínica e radiologicamente, por 1 ano após o procedimento. Até onde sabemos, este foi o primeiro estudo em que a infusão de concentrado de CMMO foi administrado no osso subcondral de pacientes com graus iniciais de OA primária. Agir no estágio ainda inicial dessa desordem pode ser crucial para retardar a progressão da doença e evitar a ATJ. Este estudo preliminar foi realizado para fornecer dados que poderiam facilitar um ensaio clínico randomizado, cego, e controlado para determinar se essa técnica é segura e eficaz.

Como achado principal desse estudo, observamos que os pacientes com OA de joelho KL grau 1 e 2, submetidos ao tratamento com terapia celular subcondral, apresentaram um alívio significativo dos sintomas de dor e melhora da função já nas três primeiras semanas após o procedimento. Evidenciamos uma redução significativa da EVA e melhoria do KOOS, WOMAC e SF-36 após o procedimento. Os achados sugerem que os pacientes se beneficiaram com o procedimento e que mantiveram os resultados positivos por, pelo menos, 12 meses sem necessidade do uso de outros medicamentos ou tratamentos. Não houve complicações ou eventos adversos graves. Uma limitação da técnica está relacionada ao preparo do paciente, que envolve sedação e anestesia local devido à injeção no osso subcondral. O uso de controle fluoroscópico também é necessário para uma administração adequada. Esses fatores, além do treinamento da equipe médica, tornam essa técnica mais demorada que uma injeção intra-articular convencional. O aumento da pressão dentro do osso pode acarretar dor 48 horas após o tratamento, portanto, o paciente deve ser avisado dessa possibilidade.

Apesar de termos demonstrado que a terapia celular local com CMMO é capaz de reduzir a dor e melhorar a função desses pacientes em comparação com as medidas basais, observamos uma diminuição gradativa dos efeitos terapêuticos ao longo do período de acompanhamento. Um estudo que utilizou infusão intra-articular de CMMO em uma pequena coorte de 6 pacientes também relatou melhorias significativas na dor e na função (WOMAC) entre 6 e 12 meses de acompanhamento (EMADEDIN et al., 2012). No entanto, no longo prazo, entre 12 e 30 meses, as melhorias terapêuticas haviam diminuído em todos os indivíduos (EMADEDIN et al., 2015). Davatchi *et al* (2016) relataram um estudo original de uma injeção intra-articular CMMO em 4 pacientes com OA de joelho em 2011. Em 2016, eles relataram um estudo de acompanhamento de 5 anos com 3 pacientes. Nesse estudo, o efeito benéfico da injeção intra-articular das CTMs começou a declinar após 6 meses. No entanto, os resultados clínicos ainda foram melhores em 5 anos em comparação com a linha de base, e nenhum paciente foi submetido a artroplastia de joelho. (DAVATCHI *et al*., 2016). Não sabemos, ainda, quais são os fatores que determinam o mecanismo de ação das células transplantadas (EMADEDIN *et al*., 2018), e por quanto tempo elas podem sobreviver após a implantação. Uma hipótese para o nosso estudo é que, pelas alterações previamente descritas no osso subcondral, apenas uma proporção menor das células administradas é incorporada pelo osso com osteoartrite, diminuindo o efeito em longo prazo. Um acompanhamento mais longo seria benéfico para determinar se há um ponto final do efeito terapêutico.

Outra possível limitação dessa técnica diz respeito ao número de CTMs presente na medula óssea da crista ilíaca. Essas células representam uma pequena população na medula óssea (0,001% a 0,01%) e diminuiu com a idade, isso poderia ser um limite da técnica em pacientes mais velhos (GANGULY *et al.*, 2017). Porém, na nossa amostra, seja qual for a idade, encontramos uma frequência de fenótipo de células-tronco hematopoéticas progenitoras, aumentadas na crista ilíaca em comparação ao osso subcondral do joelho artrítico (tabela 3). Isso demonstra que o joelho artrítico, com degeneração da cartilagem, é muito mais deficiente em população de CTMs em comparação ao número de progenitores da crista ilíaca. Essa deficiência pode ser corrigida por meio da nossa técnica, realizando o transplante de células da crista ilíaca para o osso subcondral doente. Talvez, uma maneira de melhorarmos os nossos resultados no longo prazo seria administrar injeções subsequentes do CMMO ou utilizar um método de expansão celular em sistemas de cultivo *in vitro* que permitam a obtenção e transferência de grandes quantidades de células. Precisamos de mais estudos para explorar o efeito terapêutico da dose celular no futuro.

As conclusões feitas com este estudo são claramente limitadas por alguns fatores, mais notavelmente, o tamanho pequeno da amostra, o desenho de estudo não randomizado, falta de um grupo controle comparativo para avaliação da eficácia do transplante autólogo subcondral de CMMO. Apesar de não termos detectado uma progressão das lesões de cartilagem no exame de RM dos pacientes avaliados, o período de acompanhamento foi muito curto para uma avaliação abrangente do efeito do tratamento na progressão da OA. Não houve financiamento envolvido neste estudo, o que limitou os recursos disponíveis. No entanto, essas limitações não diminuem a relevância das conclusões. Os resultados sugerem uma tendência que documenta melhora nos escores de dor e função, com uma experiência favorável relatada.

**CONCLUSÃO**

A técnica de transplante autólogo subcondral de concentrado de células mononucleares da medula óssea, desenvolvida neste estudo, é segura, proporciona melhorias significativas nos parâmetros de dor, capacidade funcional e qualidade de vida na avaliação de curto prazo. Essa técnica pode ser uma nova modalidade de tratamento para osteoartrite em estágios iniciais.

**REFERÊNCIAS**

AFIZAH, H.; YANG, Z.; HUI, J.H.P.; OUYANG, H.W.; LEE, E.H. A comparison between the chondrogenic potential of human bone marrow stem cells (BMSCs) and adipose-derived stem cells (ADSCs) taken from the same donors.**Tissue engineering**, v. 13, n. 4, p. 659-666, 2007.

ALIZAI, H.; VIRAYAVANICH, W.; JOSEPH, G.B.; NARDO, L.; LIU, F.; LIEBL, H.; NEVITT, M.C.; LYNCH, J.A.; MCCULLOCH, C.E.; LINK, T.M. Cartilage Lesion Score: Comparison of a Quantitative Assessment Score with Established Semiquantitative MR Scoring Systems. **Radiology**, v. 271, n. 2, p. 479-487, 2014.

AMERICAN GERIATRICS SOCIETY PANEL ON THE PHARMACOLOGICAL MANAGEMENT OF PERSISTENT PAIN IN OLDER PERSONS. Pharmacological management of persistent pain in older persons. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 57, n. 8, p. 1331-1346, 2009.

BARRY, F.; MURPHY, M. Mesenchymal stem cells in joint disease and repair. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 9, n. 10, p. 584-594, 2013.

BENNELL, K.L.; WRIGLEY, T.V.; HUNT, M.A.; LIM, B.W.; HINMAN, R.S. Update on the role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. Rheum. Dis. **Rheumatic Disease Clinics**, v. 39, n. 1, p. 145-176, 2013.

BERENBAUM, F.; GRIFKA, J.; CAZZANIGA, S.; D’AMATO, M.; GIACOVELLI, G.; CHEVALIER, X.; RANNOU, F.; ROVATI, L.C.; MAHEU, E. A randomised, double-blind, controlled trial comparing two intra-articular hyaluronic acid preparations differing by their molecular weight in symptomatic knee osteoarthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 71, n. 9, p. 1454-1460, 2012.

BESWICK, A.D.; WYLDE, V.; GOOBERMAN-HILL, R.; BLOM, A.; DIEPPE, P. What proportion of patients report long-term pain after total hip or knee replacement for osteoarthritis? A systematic review of prospective studies in unselected patients. **BMJ open**, v. 2, n. 1, p. e000435, 2012.

BONNET, C.S.; WALSH, D.A. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. **Rheumatology**, v. 44, n. 1, p. 7-16, 2005.

BROUWER, G.M.; VAN TOL, A.W.; BERGINK, A.P.; BELO, J.N.; BERNSEN, R.M.D.; REIJMAN, M.; POLS, H. A. P.; BIERMA-ZEINSTRA, S.M.A. Association between valgus and varus alignment and the development and progression of radiographic osteoarthritis of the knee. **Arthritis & rheumatism**, v. 56, n. 4, p. 1204-1211, 2007.

BURR, D.B. Anatomy and physiology of the mineralized tissues: role in the pathogenesis of osteoarthrosis. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 12, p. 20-30, 2004.

CAMANHO, G.L.; IMAMURA, M.; ARENDT-NIELSEN, L. Genesis of pain in arthrosis. R*ev. Bras.* **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 46, p. 14-17, 2011.

CAMPBELL, T.M., CHURCHMAN, S.M., GOMEZ, A., MCGONAGLE, D., CONAGHAN, P.G., PONCHEL, F., JONES, E. Mesenchymal Stem Cell Alterations in Bone Marrow Lesions in Patients With Hip Osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 68, n. 7, p. 1648-1659, 2016.

CAPLAN, A.I. MSCs: The Sentinel and Safe-Guards of Injury. **Journal of cellular physiology**, v. 231, n. 7, p. 1413-1416, 2016.

CAPLAN, A.I. Adult Mesenchymal Stem Cells: When, Where, and How. **Stem Cells International**, v. 2015, 2015.

CAPLAN, A.I. What’s in a name? **Tissue Engineering Part A**, v. 16, n. 8, p. 2415-2417, 2010.

CARMAN, W.J.; SOWERS, M.; HAWTHORNE, V.M.; WEISSFELD, L.A. Obesity as a risk factor for osteoarthritis of the hand and wrist: a prospective study. **American journal of epidemiology**, v. 139, n. 2, p. 119-129, 1994.

CARR, A.J.; ROBERTSSON, O.; GRAVES, S.; PRICE, A.J.; ARDEN, N.K.; JUDGE, A.; BEARD, D.J. Knee replacement. **The Lancet**, v. 379, n. 9823, p. 1331-1340, 2012.

CHOI, H.; LEE, R.H.; BAZHANOV, N.; OH, J.Y.; PROCKOP, D.J. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF-κB signaling in resident macrophages. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 118, n. 2, p. 330-338, 2011.

CHRISTENSEN, R.; BARTELS, E.M.; ASTRUP, A.; BLIDDAL, H. Effect of weight reduction in obese patients diagnosed with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 66, n. 4, p. 433-439, 2007.

CLEGG, D.O.; REDA, D.J.; HARRIS, C.L.; KLEIN, M.A.; O’DELL, J.R.; HOOPER, M.M.; BRADLEY, J.D.; BINGHAM, C.O.; WEISMAN, M.H.; JACKSON, C.G.; LANE, N.E.; CUSH, J.J.; MORELAND, L.W.; SCHUMACHER, H.R.; ODDIS, C.V.; WOLFE, F.; MOLITOR, J.A.; YOCUM, D.E.; SCHNITZER, T.J.; FURST, D.E.; SAWITZKE, A.D.; SHI, H.; BRANDT, K.D.; MOSKOWITZ, R.W.; WILLIAMS, H.J. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. **New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 8, p. 795-808, 2006.

COX, L.G.E.; VAN DONKELAAR, C.C.; VAN RIETBERGEN, B.; EMANS, P.J.; ITO, K. Decreased bone tissue mineralization can partly explain subchondral sclerosis observed in osteoarthritis. **Bone**, v. 50, n. 5, p. 1152-1161, 2012.

CRISAN, M.; YAP, S.; CASTEILLA, L.; CHEN, C.W.; CORSELLI, M.; PARK, T.S.; ANDRIOLO, G.; SUN, B.; ZHENG, B.; ZHANG, L.; NOROTTE, C.; TENG, P.N.; TRAAS, J.; SCHUGAR, R.; DEASY, B.M.; BADYLAK, S.; BUHRING, H.J.; GIACOBINO, J.P.; LAZZARI, L.; HUARD, J.; PÉAULT, B. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. **Cell stem cell**, v. 3, n. 3, p. 301-313, 2008.

DALTRO, G.; FRANCO, B.A.; FALEIRO, T.B.; ROSÁRIO, D.A.V.; DALTRO, P.B.; MEYER, R.; FORTUNA, V. Use of autologous bone marrow stem cell implantation for osteonecrosis of the knee in sickle cell disease: a preliminary report. **BMC musculoskeletal disorders**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2018a.

DALTRO, G.; FRANCO, B.A.; FALEIRO, T.B.; ROSÁRIO, D.A.V.; DALTRO, P.B.; MEYER, R.; FORTUNA, V. Use of autologous bone marrow stem cell implantation for osteonecrosis of the knee in sickle cell disease: a preliminary report. **BMC musculoskeletal disorders**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2018b.

DALTRO, G.C.; FORTUNA, V.; DE SOUZA, E.S.;SALLES, M.M.; CARREIRA, A.C.; MEYER, R.; FREIRE, S.M.; BOROJEVIC, R. Efficacy of autologous stem cell-based therapy for osteonecrosis of the femoral head in sickle cell disease: a five-year follow-up study. **Stem cell research & therapy**, v. 6, n. 1, p. 1-18, 2015.

DALTRO, P.B.; RIBEIRO, T.O.; DALTRO, G.C.; MEYER, R.J.; FORTUNA, V. CD4+ T Cell Profile and Activation Response in Sickle Cell Disease Patients with Osteonecrosis. **Mediators of Inflammation**, v. 2020, 2020.

DAVATCHI, F.; SADEGHI ABDOLLAHI, B.; MOHYEDDIN, M.; NIKBIN, B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis: 5 years follow-up of three patients. **International journal of rheumatic diseases**, v. 19, n. 3, p. 219-225, 2016.

DE GIROLAMO, L.; KON, E.; FILARDO, G.; MARMOTTI, A.G.; SOLER, F.; PERETTI, G.M.; VANNINI, F.; MADRY, H.; CHUBINSKAYA, S. Regenerative approaches for the treatment of early OA. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 24, n. 6, p. 1826-1835, 2016.

DOMINICI, M. LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; DEANS, R.; KEATING, A.; PROCKOP, D.; HORWITZ, E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.

DOUGLAS, R.J. Corticosteroid injection into the osteoarthritic knee: drug selection, dose, and injection frequency. **International journal of clinical practice**, v. 66, n. 7, p. 699-704, 2012.

ECKSTEIN, F.; CICUTTINI, F.; RAYNAULD, J.P.; WATERTON, J.C.; PETERFY, C. Magnetic resonance imaging (MRI) of articular cartilage in knee osteoarthritis (OA): morphological assessment. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 14, p. 46-75, 2006.

EMADEDIN, M.; AGHDAMI, N.; TAGHIYAR, L.; FAZELI, R.; MOGHADASALI, R.; JAHANGIR, S.; FARJAD, R.; BAGHABAN ESLAMINEJAD, M. Intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in six patients with knee osteoarthritis. **Archives of Iranian medicine**, v. 15, n. 7, p. 0-0, 2012.

EMADEDIN, M.; GHORBANI LIASTANI, M.; FAZELI, R.; MOHSENI, F.; MOGHADASALI, R.; MARDPOUR, S.; HOSSEINI, S.E.; NIKNEJADI, M.; MOEININIA, F.; AGHAHOSSEIN FANNI, A.; BAGHBAN ESLAMINEJHAD, R.; VOSOUGH DIZAJI, A.; LABIBZADEH, N.; MIRAZIMI BAFGHI, A.; BAHARVAND, H.; AGHDAMI, N. Long-Term Follow-up of Intra-articular Injection of Autologous Mesenchymal Stem Cells in Patients with Knee, Ankle, or Hip Osteoarthritis. **Archives of Iranian medicine**, v. 18, n. 6, p. 0-0, 2015.

EMADEDIN, M.; LABIBZADEH, N.; LIASTANI, M.G.; KARIMI, A.; JAROUGHI, N.; BOLURIEH, T.; HOSSEINI, S.E.; BAHARVAND, H.; AGHDAMI, N. Intra-articular implantation of autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells to treat knee osteoarthritis: a randomized, triple-blind, placebo-controlled phase 1/2 clinical trial. **Cytotherapy**, v. 20, n. 10, p. 1238-1246, 2018.

FELSON, D.T.; ANDERSON, J.J.; NAIMARK, A.; WALKER, A.M.; MEENAN, R.F. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study*.* **Annals of internal medicine**, v. 109, n. 1, p. 18-24, 1988.

FELSON, D.T.; CHAISSON, C.E.; HILL, C.L.; TOTTERMAN, S.M.; GALE, M.E.; SKINNER, K.M.; KAZIS, L.; GALE, D.R. The association of bone marrow lesions with pain in knee osteoarthritis. **Annals of internal medicine***,* **v.**134, p. 541–549, 2001.

FELSON, D.T.; MCLAUGHLIN, S.; GOGGINS, J.; LAVALLEY, M.P.; GALE, M.E.; TOTTERMAN, S.; LI, W.; HILL, C.; GALE, D. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. **Annals of internal medicine**, v. 139, n. 5\_Part\_1, p. 330-336, 2003.

FELSON, D.T.; NAIMARK, A.; ANDERSON, J.; KAZIS, L.; CASTELLI, W.; MEENAN, R.F. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. The framingham osteoarthritis study.

**Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 30, n. 8, p. 914-918, 1987.

FELSON, D.T; ZHANG, Y.; ANTHONY, J.M.; NAIMARK, A.; ANDERSON, J.J. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. **Annals of internal medicine**, v. 116, n. 7, p. 535-539, 1992.

FERNANDES, L.; HAGEN, K.B.; BIJLSMA, J.W.J.; ANDREASSEN, O.; CHRISTENSEN, P.; CONAGHAN, P.G.; DOHERTY, M.; GEENEN, R.; HAMMOND, A.; KJEKEN, I.; LOHMANDER, L.S.; LUND, H.; MALLEN, C.D.; NAVA, T.; OLIVER, S.; PAVELKA, K.; PITSILLIDOU, I.; DA SILVA, J.A.; DE LA TORRE, J.; ZANOLI, G.; VLIET VLIELAND, T.P.M., European League Against Rheumatism (EULAR). EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 72, n. 7, p. 1125-1135, 2013.

FILARDO, G.; MADRY, H.; JELIC, M.; ROFFI, A.; CUCCHIARINI, M.; KON, E. Mesenchymal stem cells for the treatment of cartilage lesions: from preclinical findings to clinical application in orthopaedics. **Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy**, v. 21, n. 8, p. 1717-1729, 2013.

FUTAMI, I.; ISHIJIMA, M.; KANEKO, H.; TSUJI, K.; ICHIKAWA-TOMIKAWA, N.; SADATSUKI, R;, MUNETA, T.; ARIKAWA-HIRASAWA, E.; SEKIYA, I.; KANEKO, K. Isolation and Characterization of Multipotential Mesenchymal Cells from the Mouse Synovium*.* **Plos One**, v.7, p. e45517, 2012.

GANGULY, P.; J. EL-JAWHARI, J.; V. GIANNOUDIS, P.; N. BURSKA, A.; PONCHEL, F.; A JONES, E. Age related changes in bone marrow mesenchymal stromal cells: a potential impact on osteoporosis and osteoarthritis development. **Cell transplantation**, v. 26, n. 9, p. 1520-1529, 2017.

GERSING, A.S.; SOLKA, M.; JOSEPH, G.B.; SCHWAIGER, B.J.; HEILMEIER, U.; FEUERRIEGEL, G.; NEVITT, M.C.; MCCULLOCH, C.E.; LINK, T.M. Progression of cartilage degeneration and clinical symptoms in obese and overweight individuals is dependent on the amount of weight loss: 48-month data from the Osteoarthritis Initiative. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 24, n. 7, p. 1126-1134, 2016.

GOLDRING, M.B.; GOLDRING, S.R. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1192, n. 1, p. 230-237, 2010.

GUCCIONE, A.A.; FELSON, D.T.; ANDERSON, J.J.; ANTHONY, J.M.; ZHANG, Y.; WILSON, P.W.; KELLY-HAYES, M.; WOLF, P.A.; KREGER, B.E.; KANNEL, W.B. The effects of specific medical conditions on the functional limitations of elders in the Framingham Study. **American journal of public health**, v. 84, n. 3, p. 351-358, 1994.

GUERMAZI, A.; HUNTER, D.J.; ROEMER, F.W. Plain radiography and magnetic resonance imaging diagnostics in osteoarthritis: validated staging and scoring. **JBJS**, v. 91, n. Supplement\_1, p. 54-62, 2009.

GUPTA, P.K.; DAS, A.K.; CHULLIKANA, A.; MAJUMDAR, A.S. Mesenchymal stem cells for cartilage repair in osteoarthritis.**Stem cell research & therapy**, v. 3, n. 4, p. 1-9, 2012.

HEALY, W.L.; DELLA VALLE, C.J.; IORIO, R.; BEREND, K.R.; CUSHNER, F.D.; DALURY, D.F.; LONNER, J.H. Complications of total knee arthroplasty: standardized list and definitions of the Knee Society. **Clinical Orthopaedics and Related Research®**, v. 471, n. 1, p. 215-220, 2013.

HERNIGOU, P.; DALTRO, G.; HERNIGOU, J. Hip osteonecrosis: stem cells for life or behead and arthroplasty? **International orthopaedics**, v. 42, n. 7, p. 1425-1428, 2018.

HERNIGOU, P.; TROUSSELIER, M.; ROUBINEAU, F.; BOUTHORS, C.; CHEVALLIER, N.; ROUARD, H.; FLOUZAT-LACHANIETTE, C.H. Stem Cell Therapy for the Treatment of Hip Osteonecrosis: A 30-Year Review of Progress. **Clinics in orthopedic surgery**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2016.

HERRERO-BEAUMONT, G.; IVORRA, J.A.R.; DEL CARMEN TRABADO, M.; BLANCO, F.J.; BENITO, P.; MARTÍN-MOLA, E.; PAULINO, J.; MARENCO, J.L.; PORTO, A.; LAFFON, A.; ARAÚJO, D.; FIGUEROA, M.; BRANCO, J. Glucosamine sulfate in the treatment of knee osteoarthritis symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled study using acetaminophen as a side comparator. **Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 56, n. 2, p. 555-567, 2007.

HOCHBERG, M.C.; ALTMAN, R.D.; APRIL, K.T.; BENKHALTI, M.; GUYATT, G.; MCGOWAN, J.; TOWHEED, T.; WELCH, V.; WELLS, G.; TUGWELL, P. American College of Rheumatology. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. **Arthritis care & research**, v. 64, n. 4, p. 465-474, 2012.

HOPMAN-ROCK, M.; ODDING, E.; HOFMAN, A.; KRAAIMAAT, F.W.; BIJLSMA, J.W. Physical and psychosocial disability in elderly subjects in relation to pain in the hip and/or knee. **Journal Rheumatology***.* v.23, p.1037–1044, 1996.

HUBERTSSON, J.; TURKIEWICZ, A.; PETERSSON, I.F.; ENGLUND, M. Understanding Occupation, Sick Leave, and Disability Pension Due to Knee and Hip Osteoarthritis from a Sex Perspective. **Arthritis care & research**, v. 69, n. 2, p. 226-233, 2017.

HUNTER, D.J., GERSTENFELD, L., BISHOP, G., DAVIS, A.D., MASON, Z.D., EINHORN, T.A., MACIEWICZ, R.A., NEWHAM, P., FOSTER, M., JACKSON, S., MORGAN, E.F. Bone marrow lesions from osteoarthritis knees are characterized by sclerotic bone that is less well mineralized. **Arthritis research & therapy**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2009.

HUNTER, D.J.; GUERMAZI, A.; LO, G.H.; GRAINGER, A.J.; CONAGHAN, P.G.; BOUDREAU, R.M.; ROEMER, F.W. Evolution of semi-quantitative whole joint assessment of knee OA: MOAKS (MRI Osteoarthritis Knee Score).**Osteoarthritis and cartilage**, v. 19, n. 8, p. 990-1002, 2011.

HUNTER, D.J.; NIU, J.; FELSON, D.T.; HARVEY, W.F.; GROSS, K.D.; MCCREE, P.; ALIABADI, P.; SACK, B.; ZHANG, Y. Knee alignment does not predict incident osteoarthritis: the Framingham osteoarthritis study. **Arthritis & Rheumatism**, v. 56, n. 4, p. 1212-1218, 2007.

JÄGER, M.; HERNIGOU, P.; ZILKENS, C.; HERTEN, M.; LI, X.; FISCHER, J.; KRAUSPE, R. Cell therapy in bone healing disorders. **Orthopedic reviews**, v. 2, n. 2, 2010.

JIANG, L.; TIAN, W.; WANG, Y.; RONG, J.; BAO, C.; LIU, Y.; ZHAO, Y.; WANG, C. Body mass index and susceptibility to knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis.  **Joint Bone Spine**, v. 79, n. 3, p. 291-297, 2012.

JOSEPH, G.B.; BAUM, T.; ALIZAI, H.; CARBALLIDO-GAMIO, J.; NARDO, L.; VIRAYAVANICH, W.; LYNCH, J.A.; NEVITT, M.C.; MCCULLOCH, C.E.; MAJUMDAR, S.; LINK, T.M. Baseline mean and heterogeneity of MR cartilage T2 are associated with morphologic degeneration of cartilage, meniscus, and bone marrow over 3 years – data from the Osteoarthritis Initiative. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 20, n. 7, p. 727-735, 2012.

KARSDAL, M.A.; BAY-JENSEN, A.C.; LORIES, R.J.; ABRAMSON, S.; SPECTOR, T.; PASTOUREAU, P.; CHRISTIANSEN, C.; ATTUR, M.; HENRIKSEN, K.; GOLDRING, S.R.; KRAUS, V. The coupling of bone and cartilage turnover in osteoarthritis: opportunities for bone antiresorptives and anabolics as potential treatments?. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, n. 2, p. 336-348, 2014.

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

KIJOWSKI, R.; STANTON, P.; FINE, J.; DE SMET, A. Subchondral bone marrow edema in patients with degeneration of the articular cartilage of the knee joint. **Radiology**, v. 238, n. 3, p. 943-949, 2006.

KOENDERS, M.I.; LUBBERTS, E.; OPPERS-WALGREEN, B.; VAN DEN BERSSELAAR, L.; HELSEN, M.M.; KOLLS, J.K.; JOOSTEN, L.A.B.; VAN DEN BERG, W.B. Induction of cartilage damage by overexpression of T cell interleukin-17A in experimental arthritis in mice deficient in interleukin-1. **Arthritis & Rheumatism**, v. 52, n. 3, p. 975-983, 2005.

KON, E., FILARDO, G., DROBNIC, M., MADRY, H., JELIC, M., VAN DIJK, N., DELLA VILLA, S. Non-surgical management of early knee osteoarthritis. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 20, n. 3, p. 436-449, 2012.

KURTH, T.B.; DELL’ACCIO, F.; CROUCH, V.; AUGELLO, A.; SHARPE, P.T.; DE BARI, C. Functional mesenchymal stem cell niches in adult mouse knee joint synovium in vivo.

**Arthritis & Rheumatism**, v. 63, n. 5, p. 1289-1300, 2011.

TAT, S.K.; LAJEUNESSE, D.; PELLETIER, J.P.; MARTEL-PELLETIER, J. Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 24, n. 1, p. 51-70, 2010.

LAWRENCE, R.C.; FELSON, D.T.; HELMICK, C.G.; ARNOLD, L.M.; CHOI, H.; DEYO, R.A.; GABRIEL, S.; HIRSCH, R.; HOCHBERG, M.C.; HUNDER, G.G.; JORDAN, J.M.; KATZ, J.N.; KREMERS, H.M.; WOLFE, F. National Arthritis Data Workgroup. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II*.* **Arthritis & Rheumatism**, v. 58, n. 1, p. 26-35, 2008.

LEBOUVIER, A.; POIGNARD, A.; COQUELIN-SALSAC, L.; LÉOTOT, J.; HOMMA, Y.; JULLIEN, N.; BIERLING, P.; GALACTÉROS, F.; HERNIGOU, P.; CHEVALLIER, N.; ROUARD, H. Autologous bone marrow stromal cells are promising candidates for cell therapy approaches to treat bone degeneration in sickle cell disease. **Stem cell research**, v. 15, n. 3, p. 584-594, 2015.

LOIA, M.C.; VANNI, S.; ROSSO, F.; BONASIA, D.E.; BRUZZONE, M.; DETTONI, F.; ROSSI, R. High tibial osteotomy in varus knees: indications and limits. **Joints**, v. 4, n. 02, p. 098-110, 2016.

LÜTZNER, J.; KASTEN, P.; GÜNTHER, K.P.; KIRSCHNER, S. Surgical options for patients with osteoarthritis of the knee. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 5, n. 6, p. 309-316, 2009.

MADUEKWE, U.I.; ZYWIEL, M.G.; BONUTTI, P.M.; JOHNSON, A.J.; DELANOIS, R.E.; MONT, M.A. Scientific evidence for the use of modern unicompartmental knee arthroplasty.

**Expert Review of Medical Devices**, v. 7, n. 2, p. 219-239, 2010.

MARICAR, N.; PARKES, M.J.; CALLAGHAN, M.J.; FELSON, D.T.; O’NEILL, T.W. Where and how to inject the knee--a systematic review. In: **Seminars in arthritis and rheumatism**. WB Saunders, 2013. p. 195-203.

MARQUES, A.P.; KONDO, A. A fisioterapia na osteoartrose: uma revisäo da literatura. **Rev Bras Reumatol**, v. 38, n. 2, p. 83-90, 1998.

MCALINDON, T.E.; BANNURU, R.R.; SULLIVAN, M.C.; ARDEN, N.K.; BERENBAUM, F.; BIERMA-ZEINSTRA, S.M.; HAWKER, G.A.; HENROTIN, Y.; HUNTER, D.J.; KAWAGUCHI, H.; KWOH, K.; LOHMANDER, S.; RANNOU, F.; ROOS, E.M.; UNDERWOOD, M. O. guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis.

**Osteoarthritis and cartilage**, v. 22, n. 3, p. 363-388, 2014.

MELIEF, S.M., GEUTSKENS, S.B., FIBBE, W.E., ROELOFS, H. Multipotent stromal cells skew monocytes towards an anti-inflammatory interleukin-10-producing phenotype by production of interleukin-6. **Haematologica**, v. 98, n. 6, p. 888, 2013

MILLER, G.D.; NICKLAS, B.J.; DAVIS, C.; LOESER, R.F.; LENCHIK, L.; MESSIER, S.P. Intensive weight loss program improves physical function in older obese adults with knee osteoarthritis. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1219-1230, 2006.

MORONI, L.; FORNASARI, P.M. Human mesenchymal stem cells: a bank perspective on the isolation, characterization and potential of alternative sources for the regeneration of musculoskeletal tissues. **Journal of cellular physiology**, v. 228, n. 4, p. 680-687, 2013.

MOSELEY, J.B.; O’MALLEY, K.; PETERSEN, N.J.; MENKE, T.J.; BRODY, B.A.; KUYKENDALL, D.H.; HOLLINGSWORTH, J.C.; ASHTON, C.M.; WRAY, N.P. A Controlled Trial of Arthroscopic Surgery for Osteoarthritis of the Knee. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 2, p. 81-88, 2002.

MUSCHLER, G.F.; BOEHM, C.; EASLEY, K. Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. **JBJS**, v. 79, n. 11, p. 1699-1709, 1997.

NÉMETH, K.; LEELAHAVANICHKUL, A.; YUEN, P.S.T.; MAYER, B.; PARMELEE, A.; DOI, K.; ROBEY, P.G.; LEELAHAVANICHKUL, K.; KOLLER, B.H.; BROWN, J.M.; HU, X.; JELINEK, I.; STAR, R.A.; MEZEY, E. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. **Nature medicine**, v. 15, n. 1, p. 42-49, 2009.

NEVITT, M.C.; FELSON, D.T.; WILLIAMS, E.N.; GRADY, D. The effect of estrogen plus progestin on knee symptoms and related disability in postmenopausal women: The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study, a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Arthritis & Rheumatism**, v. 44, n. 4, p. 811-818, 2001.

NEWBERRY, S.J.; FITZGERALD, J.D.; MAGLIONE, M.A.; O’HANLON, C.E.; BOOTH, M.; MOTALA, A.; TIMMER, M.; SHANMAN, R.; SHEKELLE, P.G. Systematic Review for Effectiveness of Hyaluronic Acid in the Treatment of Severe Degenerative Joint Disease (DJD) of the Knee, AHRQ Technology Assessments. Agency for Healthcare Research and Quality (US), Rockville (MD), 2015.

NHO, S.J.; KYMES, S.M.; CALLAGHAN, J.J.; FELSON, D.T. The burden of hip osteoarthritis in the United States: epidemiologic and economic considerations. **JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 21, p. S1-S6, 2013.

OLIVERIA, S.A.; FELSON, D.T.; REED, J.I.; CIRILLO, P.A.; WALKER, A.M. Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. **Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 38, n. 8, p. 1134-1141, 1995.

O’NEIL, C.K.; HANLON, J.T.; MARCUM, Z.A. Adverse effects of analgesics commonly used by older adults with osteoarthritis: focus on non-opioid and opioid analgesics. **The American journal of geriatric pharmacotherapy**, v. 10, n. 6, p. 331-342, 2012.

OROZCO, L.; MUNAR, A.; SOLER, R.; ALBERCA, M.; SOLER, F.; HUGUET, M.; SENTÍS, J.; SÁNCHEZ, A.; GARCÍA-SANCHO, J. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. **Transplantation**, v. 95, n. 12, p. 1535-1541, 2013.

PETERFY, C.G.; GUERMAZI, A.; ZAIM, S.; TIRMAN, P.F.J.; MIAUX, Y.; WHITE, D.; KOTHARI, M.; LU, Y.; FYE, K.; ZHAO, S.; GENANT, H.K. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 12, n. 3, p. 177-190, 2004.

PIUZZI, N.S.; CHAHLA, J.; SCHROCK, J.B.; LAPRADE, R.F.; PASCUAL-GARRIDO, C.; MONT, M.A.; MUSCHLER, G.F. Evidence for the Use of Cell-Based Therapy for the Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head: A Systematic Review of the Literature.**The Journal of arthroplasty**, v. 32, n. 5, p. 1698-1708, 2017.

RADIN, E.L.; ROSE, R.M. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. **Clinical orthopaedics and related research**, n. 213, p. 34-40, 1986.

REGNAUX, J.P.; LEFEVRE-COLAU, M.M.; TRINQUART, L.; NGUYEN, C.; BOUTRON, I.; BROSSEAU, L.; RAVAUD, P. High-intensity versus low-intensity physical activity or exercise in people with hip or knee osteoarthritis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 10, 2015.

SAASE, J.L.V; ROMUNDE, L.K.V.; CATS, A.; VANDENBROUCKE, J.P.; VALKENBURG, H.A. Epidemiology of osteoarthritis: Zoetermeer survey. Comparison of radiological osteoarthritis in a Dutch population with that in 10 other populations. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 48, n. 4, p. 271-280, 1989.

SCARPIGNATO, C.; LANAS, A.; BLANDIZZI, C.; LEMS, W.F.; HERMANN, M.; HUNT, R.H. Safe prescribing of non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with osteoarthritis--an expert consensus addressing benefits as well as gastrointestinal and cardiovascular risks. **BMC medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-22, 2015.

SELLAM, J.; BERENBAUM, F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 11, p. 625-635, 2010.

SHIRAI, T.; KOBAYASHI, M.; NISHITANI, K.; SATAKE, T.; KUROKI, H.; NAKAGAWA, Y.; NAKAMURA, T. Chondroprotective effect of alendronate in a rabbit model of osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 29, n. 10, p. 1572-1577, 2011.

SINGH, J.A.; NOORBALOOCHI, S.; MACDONALD, R.; MAXWELL, L.J. Chondroitin for osteoarthritis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 1, 2015.

SURI, S., WALSH, D.A. Osteochondral alterations in osteoarthritis. **Bone**, v. 51, n. 2, p. 204-211, 2012.

VAN DER KRAAN, P.M.; VAN DEN BERG, W.B. Osteoarthritis in the context of ageing and evolution. Loss of chondrocyte differentiation block during ageing. **Ageing research reviews**, v. 7, n. 2, p. 106-113, 2008.

VERONESE, N.; STUBBS, B.; SOLMI, M.; SMITH, T.O.; NOALE, M.; COOPER, C.; MAGGI, S. Association between lower limb osteoarthritis and incidence of depressive symptoms: data from the osteoarthritis initiative. **Age and ageing**, v. 46, n. 3, p. 470-476, 2017.

WAKITANI, S.; OKABE, T.; HORIBE, S.; MITSUOKA, T.; SAITO, M., KOYAMA, T.; NAWATA, M.; TENSHO, K.; KATO, H.; UEMATSU, K.; KURODA, R.; KUROSAKA, M.; YOSHIYA, S.; HATTORI, K.; OHGUSHI, H. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 5, n. 2, p. 146-150, 2011.

WLUKA, A.E.; LOMBARD, C.B.; CICUTTINI, F.M. Tackling obesity in knee osteoarthritis. *Nat. Rev.* **Nature Reviews Rheumatology**, v. 9, n. 4, p. 225-235, 2013.

YEN, B.L.; HUANG, H.I.; CHIEN, C.C.; JUI, H.Y.; KO, B.S.; YAO, M.; SHUN, C.T.; YEN, M.L.; LEE, M.C.; CHEN, Y.C. Isolation of multipotent cells from human term placenta. **Stem cells**, v. 23, n. 1, p. 3-9, 2005.

ZANETTI, M.; BRUDER, E.; ROMERO, J.; HODLER, J. Bone marrow edema pattern in osteoarthritic knees: correlation between MR imaging and histologic findings. **Radiology**, v. 215, n. 3, p. 835-840, 2000.

ZHENG, Y.H.; XIONG, W.; SU, K.; KUANG, S.J.; ZHANG, Z.G. Multilineage differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro* and *in vivo*. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 5, n. 6, p. 1576-1580, 2013.

ZUIDERBAAN, H.A.; VAN DER LIST, J.P.; KLEEBLAD, L.J.; APPELBOOM, P.; KORT, N.P.; PEARLE, A.D.; RADEMAKERS, M.V. Modern Indications, Results, and Global Trends in the Use of Unicompartmental Knee Arthroplasty and High Tibial Osteotomy in the Treatment of Isolated Medial Compartment Osteoarthritis. **Unicompartmental Knee Arthroplasty**, p. 19, 2016.

ZUK, P.A.; ZHU, M.; ASHJIAN, P.; DE UGARTE, D.A.; HUANG, J.I.; MIZUNO, H.; ALFONSO, Z.C.; FRASER, J.K.; BENHAIM, P.; HEDRICK, M.H. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. **Molecular biology of the cell**, v. 13, n. 12, p. 4279-4295, 2002.