

Principais aplicações de derivados da medula óssea na medicina regenerativa

Main applications of bone marrow derivatives in regenerative medicine

Sandro Max Castro Silva^{1*}, Camila Cavalcante Castro², Pedro Cavalcante Castro³, Martha Moreira Cavalcante Castro⁴, Gildásio Cerqueira Daltro⁵

RESUMO

Introdução: O envelhecimento, as doenças e lesões podem ser considerados como o resultado de células que estão danificadas ou em estado de mau funcionamento. A medicina regenerativa tem como premissa restabelecer a homeostase dos tecidos, para promover reparação ou substituição de células, tecidos ou órgãos danificados, envolvendo a articulação de diferentes disciplinas, dentre elas engenharia, tecnologia, medicina e biologia.

Objetivos: Descrever a composição e os produtos derivados da medula óssea, sua utilização e aplicação em medicina regenerativa, e enumerar as formas de obter os derivados; citar os tipos de procedimentos que são realizados e descrever as principais indicações.

Metodologia: Revisão de literatura realizada através de pesquisa nas bases de dados LILACS e PUBMED em artigos científicos publicados no período de 2007 a 2022, buscando verificar a efetividade dos procedimentos em medicina regenerativa, apresentados com utilização de células-tronco extraídas da medula óssea, e entender a fisiopatologia dos mecanismos envolvidos. Foram excluídos os trabalhos que relatavam pesquisa em animais e com células-tronco provenientes de tecido adiposo.

Conclusão: Os estudos, em sua maioria, mostram que os produtos derivados da medula óssea possuem efetividade e capacidade de mudar o curso da doença, desde que a intervenção seja precocemente realizada. Ademais, existem inúmeras pesquisas na área de medicina regenerativa com utilização de métodos adjuvantes em associação com a engenharia genética no desenvolvimento de biomateriais e ortobiológicos, além de expansão das células-tronco em laboratório. Alguns pesquisadores questionam o custo financeiro do método e, por isso, temem a dificuldade de acesso da maioria da população.

Descritores: Medicina regenerativa. Células-tronco mesenquimais. Plasma rico em plaquetas. Medula óssea. Células estromais.

¹Médico, especialista em Ortopedia e Traumatologia, doutorando do PPGPIOS, ICS, UFBA.

²Mestranda do PPGMS, FAMEB, UFBA.

³Acadêmico do Curso de Medicina da UNIFACS, BA.

⁴Mestre em Neurociências, doutora em Medicina e Saúde, FAMEB, UFBA, professora da UFBA.

⁵Doutor em Cirurgia, professor do Departamento de Cirurgia, FAMEB, UFBA

ABSTRACT

Introduction: *Aging, disease and injury can be thought of as the result of cells that are damaged or in a malfunctioning state. Regenerative medicine's premise is to restore tissue homeostasis by promoting repair or replacing damaged cells, tissues or organs, involving the linking and combination of different disciplines, including engineering, technology, medicine and biology.*

Objective: *To describe the composition and products derived from bone marrow; use, and application in regenerative medicine, and list the ways to obtain the derivatives; mention the types of procedures that are performed and describe the main indications.*

Methodology: *Literature review through research carried out in the LILACS and PUBMED databases from 2007 to 2022, searching to verify the effectiveness of regenerative medicine procedures described in published scientific articles using stem cells extracted from bone marrow, seeking to understand the pathophysiology of mechanisms involved. Studies reporting research on animals and stem cells from adipose tissue were excluded.*

Conclusion: *Most studies show that bone marrow-derived products are effective and capable of changing the course of the disease, provided that intervention is performed early. Furthermore, there are numerous researches in the field of regenerative medicine using adjuvant methods in association with genetic engineering in the development of biomaterials and orthobiologicals, and the expansion of stem cells in the laboratory. Some researchers question the financial cost of the method; therefore, they fear the difficulty of access by the majority of the population.*

Keywords: *Regenerative Medicine; Mesenchymal Stem Cells; Platelet-rich Plasma; Bone Marrow; Stromal Cells.*

Correspondente/Corresponding: *Sandro Max Castro Silva – End: Av. Professor Magalhães Neto, 1541 – Centro Médico do Hospital da Bahia, Bloco A, sala 3014, Salvador, Bahia. CEP: 41820-021 – Tel.: (71) 2109-2314
E-mail: sandromax65@gmail.com

INTRODUÇÃO

A primeira vez que se teve notícias da descrição científica de reparação de feridas e regeneração de órgãos e tecidos vem de longa data, tão antiga quanto a própria humanidade. Na mitologia grega, existe uma narrativa que envolve Prometeu – o titã Grego, responsável pela criação da humanidade, que foi punido por Zeus pelo fato de desobedecê-lo, roubando-lhe o fogo e doando aos mortais. Como castigo, ele ficaria amarrado a uma grande pedra, onde, todos os dias, uma imensa águia devoraria uma parte de seu fígado, que se regeneraria, posteriormente¹.

Mais recentemente, os trabalhos da ciência que envolvem células-tronco com regeneração de órgãos tiveram seu marco inicial nos anos de 1950, em modelos animais, onde foram realizadas as primeiras tentativas de transplante de medula óssea. Essas experiências pioneiras viabilizaram o aprimoramento das pesquisas para o transplante de medula óssea em humanos, uma terapia amplamente utilizada em várias doenças do sangue². Atualmente, a medicina regenerativa tem, como um de seus principais focos, a pesquisa científica, não apenas na busca de novas terapias, como também de entender a biologia básica

e a patogenia da doença³.

A medula óssea tem, em sua composição, mieloblastos, metamielócitos, promielócitos, granulócitos segmentados (eosinófilos, neutrófilos e basófilos), linfócitos, monócitos, células-tronco mesenquimais (hematopoietic stem cells), eritroblastos nucleados, que expressam a qualidade do aspirado medular, e fragmentos enucleados como os eritrócitos maduros, plaquetas e pró-eritroblastos⁴. Essas células, que ficam localizadas no endósteo, o qual, por sua vez, é recoberto por osteoblastos e remodelado por osteoclastos, promovem a manutenção das células mesenquimais. A autorrenovação dessas células é realizada através do nicho perivascular pelas células CAR, que secretam os fatores necessários⁵. São células multipotentes (estromais e células-tronco hematopoieticas) e têm grande potencial regenerativo. Com o passar dos anos, vem ocorrendo uma diminuição das células mesenquimais^{6,7}.

Existem duas formas de utilização do aspirado de medula óssea: BMA (Bone Marrow Aspirate) e BMAC (Bone Marrow Aspirate Concentrate). No primeiro, a medula não é manipulada em laboratório, o que torna a técnica mais barata. No segundo,

a manipulação é realizada com o objetivo de separar as células de interesse, que são as células totais nucleadas e as plaquetas. Após a coleta do BMA, forma-se um coágulo que irá desempenhar papel importante na reparação dos tecidos. Essa formação ocorre através de degranulação e ativação de plaquetas, e citocinas osteotrópicas são liberadas no local lesionado, juntamente com os fatores de crescimento⁸. No aspirado de medula óssea, em comparação ao sangue periférico, observa-se maior concentrado de células progenitoras, especialmente o aspirado medular, que deve ser coletado utilizando-se seringa específica de 10ml na crista posterior, fazendo-se movimentos circulares combinados com movimentos de entrada e saída da agulha, em diferentes direções⁹.

Outro fenômeno importante, no processo, é a atividade fibrinolítica, que ocorre na formação do coágulo, levando à liberação de fatores da angiogênese. O concentrado celular de medula óssea (BMAC) tem sido muito utilizado para tratar condições osteoartíticas, por proporcionar a angiogênese e a osteogênese, pois possui propriedades osteocondutivas e osteoindutivas^{10,11}. A literatura ainda descreve importante função imunomodulatória e anti-inflamatória, o que o torna capaz de induzir e aumentar significativamente o potencial de reparação dos tecidos¹¹.

Além da utilização no reparo da lesão condral dos quadros de osteoartrite, a osteonecrose tem sido estudada exaustivamente. Hernigou, P. *et al.* relatam, de forma pioneira, que a injeção de células-tronco de medula óssea, nos quadros de osteonecrose da cabeça do fêmur, seria uma técnica segura e com capacidade de melhorar os estágios iniciais da doença¹².

Andriolo *et al.*¹³ (2018) reafirmaram, em estudo de revisão sistemática e de metanálise, confirmado por Hernigou, através de estudo prospectivo e randomizado, o efeito, a longo prazo, dos tratamentos com utilização de células-tronco da medula óssea. No entanto, os estudiosos apresentam uma visão crítica e questionam a qualidade e a competência celular, considerando as alterações no ambiente em que ocorre a osteonecrose. Relatam ainda que os aspirados de medula óssea são coletados em pacientes com patologia óssea e com fatores de risco associados (álcool, corticoides...). Por fim, questionam o que pode tornar as células mesenquimais de medula óssea incompetentes na função regenerativa, quando injetadas em humanos que apresentam estágios tardios de osteonecrose^{12,13}.

Como será possível se obter correção, de forma permanente, da desadaptação ocorrida com essas células? Recentemente, alguns autores descrevem que as células mesenquimais da medula óssea podem conter informações epigenômicas, o que poderá alterar a trajetória de expressão gênica, bem como a funcionalidade celular ao longo da vida. Células-tronco expandidas *in vitro* podem aumentar numericamente e contribuir na solução do problema. Estímulos macro (hábitos de vida, tabagismo, poluição...) e microambientais (*in situ*) poderiam explicar as alterações no reparo¹².

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa, que utiliza, como bases de dados, LILACS e PUBMED, através de artigos científicos publicados em literatura especializada no período compreendido

de 2007 a 2022, a fim de verificar a efetividade dos tratamentos da medicina regenerativa com utilização de células-tronco e buscar compreender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no processo. A pesquisa foi realizada de abril a junho de 2022, e os artigos foram selecionados após verificação do título e se contemplavam os objetivos deste trabalho. Os artigos foram obtidos em língua inglesa, utilizando-se os “Descritores de buscas em Ciências da Saúde” (DECS) ou *Medical Subject Headings (Mesh)*: medicina regenerativa; células-tronco mesenquimais; plasma rico em plaquetas; medula óssea; células estromais e seus correlatos, na língua inglesa.

CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram considerados, para esta revisão, os trabalhos que descreviam a prática da medicina regenerativa, os métodos utilizados, a forma de obtenção dos produtos, os tipos de procedimentos realizados e a forma de utilização do método.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos os trabalhos que relatavam pesquisas em animais.

Existem vários estudos publicados, na literatura especializada, sobre o isolamento e o desenvolvimento de células-tronco que representam um grande avanço e norteiam os cientistas na identificação e no cultivo de tipos específicos de células para regenerar os tecidos em várias enfermidades, a exemplo de doença de Alzheimer¹⁴, doenças do coração¹⁵, doença de Parkinson¹⁶, pulmão^{17,18}, fígado, músculos, tecido ósseo e outros órgãos¹⁹⁻²¹. Alguns autores, demonstram preocupação com os aspectos éticos que surgiram com as pesquisas de células-tronco, tanto em humanos quanto em animais²².

No nascimento, é observada uma razão de 1:10.000 células mesenquimais/células totais, enquanto que, aos 80 anos, essa razão é de 1:2.000.000. Esse fenômeno ocorre apenas na medula óssea, mas não no tecido adiposo. As células-tronco da medula óssea expressam razão constante de 1:10-15.000²³.

Os produtos derivados da medula óssea também vêm sendo estudados, associando-se ao ácido hialurônico. De Melo *et al.*²⁴ (2020) demonstraram que, quando cultivadas com matriz de rede polimerizada de PRP rica em leucócitos, as células derivadas de tecido adiposo humano têm capacidade osteogênica e condrogênica maior, em comparação com matriz de fibrina, o que sugere utilizar matriz de PRP nas lesões condrais²⁴. Relatos de pesquisadores sugerem que, aproximadamente, apenas 0,08, 0,007 e 0,001-0,01% de células nucleadas na medula óssea são células-tronco hematopoiéticas, EPCs (células progenitoras endoteliais) e CTPs (progenitores do tecido), respectivamente. O restante das células presentes na medula óssea (>99%) são células não progenitoras – hemácias, plaquetas e leucócitos²⁵.

Foram encontrados, na pesquisa realizada, vários estudos em medicina regenerativa e sua aplicação em doenças do ser humano, como no estudo do câncer²⁶, lesões cerebrais adquiridas e degenerativas do sistema nervoso²⁷, doenças odontológicas, etc. Dentre elas, as doenças mais frequentemente citadas foram os quadros de artrites e osteoartroscioses, sobretudo do quadril. Os principais fatores de risco associados são atribuídos a condições etiológicas múltiplas, como a hipoperfusão e a



Figura 2. (A) Marcação da pele na espinha lílaca póstero-superior para aspiração da medula óssea. (B) Aspiração de medula óssea lílaca com agulha de Jamshidi. (C) Medula óssea coletada nos tubos cônicos. Fonte: Gali et al., 2018.³¹

isquemia nos tecidos, além dos fatores genéticos, os relacionados a fatores externos e ambientais, ao uso abusivo de álcool, de tabaco e uso crônico de medicamentos (corticoides) que promovem diretamente dano tóxico celular²⁸.

Balistreri *et al.*²⁹ (2020), em artigo publicado em 2020, relatam que a terapia com células-tronco, que nasceu de forma revolucionária como uma promessa na substituição dos tratamentos farmacológicos, é ainda uma esperança, embora não seja uma solução eficaz neste momento. No entanto, um novo horizonte nesse campo está surgindo, embasado em um melhor entendimento da biologia das células-tronco, como também no uso de tecnologias avançadas e disciplinas inovadoras, o que poderá levar à tão esperada revolução médica²⁹.

Em revisão sistemática recente, Rodríguez-Fuentes *et al.*³⁰ (2021) relatam que existem, atualmente, estudos e ensaios em grande número de ambientes clínicos, com o uso de células-tronco mesenquimais humanas (hMSCs). Nessa revisão, considerando os trabalhos publicados até julho de 2020, existia um total de 1.138 ensaios cadastrados. A maioria dos estudos se encontra na fase 2 (61,0%) ou na fase 1 (30,8%), e as áreas mais estudadas foram as de traumatologia, cardiologia, neurologia e imunologia. Desses estudos, apenas 18 ensaios clínicos

publicaram resultados: a medula óssea foi a fonte mais comum de isolamento. O tratamento variou de 1-200 M hMSCs. Todos eles têm métodos de preparo semelhantes, com resultados positivos e sem efeitos adversos graves³⁰.

Os principais produtos descritos e utilizados foram os derivados do aspirado de medula óssea, o BMA (Bone Marrow Aspirate) e o BMAC (Bone Marrow Aspirate Concentrate), de forma individualizada ou em associação com outros métodos (PRP – plasma rico em plaquetas, cultivo de células-tronco em laboratório, scaffolds, ácido hialurônico, etc.). A Figura 1 demonstra o processo de coleta do BMA.

A Figura 2 demonstra a preparação do BMAC. O sangue aspirado é colocado em 6 tubos de centrifugação, cada tubo com cerca de 10 mL de BMA, para, em seguida, ser adicionada a solução de histopaque a esses tubos. O processo de centrifugação é feito por 20 min, aumentando-se lentamente até 2000 rpm, depois diminuindo gradualmente. Após a centrifugação, formam-se quatro camadas. A segunda camada (camada de buffy coat), que contém o número máximo de MSCs, é, então, separada de todos os tubos da centrífuga e coletada em um único tubo³¹.

O PRP é preparado por um processo conhecido como centrifugação diferencial. Na centrifugação diferencial, a força de

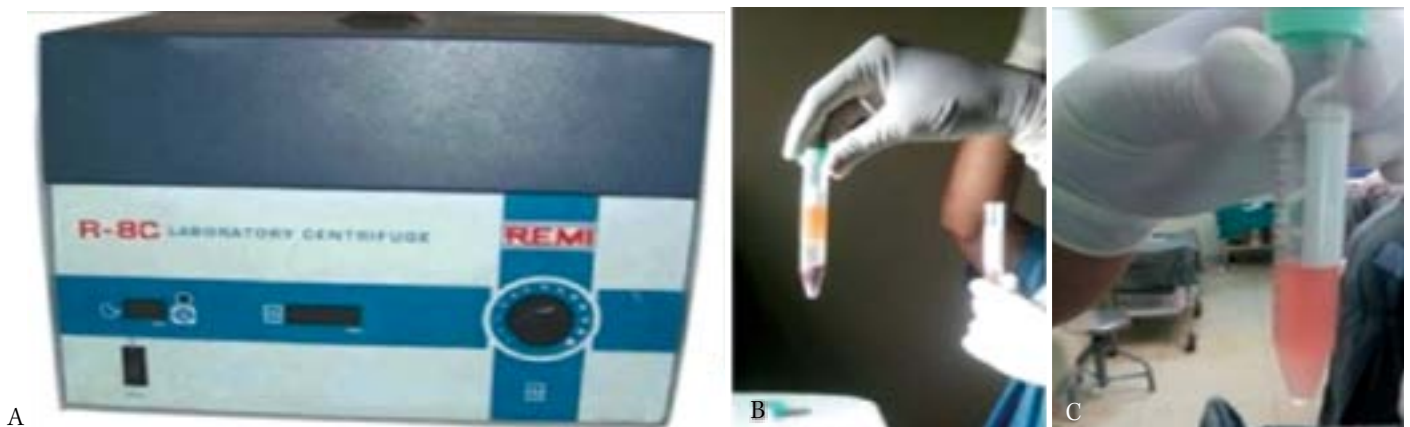
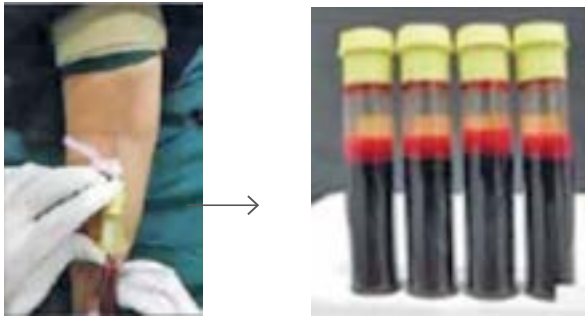


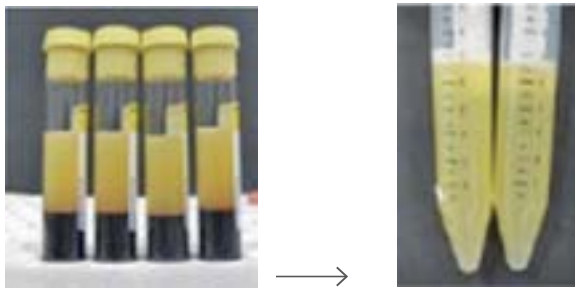
Figura 2. (A) Centrífuga usada para concentração intraoperatória de medula óssea autóloga. (B) Aspirado de medula óssea centrifugado, mostrando a camada de buffy coat rica em células progenitoras que precisam ser extraídas. (C) Concentrado de aspirado de medula óssea obtido após a coleta da camada de buffy coat de todos os tubos de centrifugação. Fonte: Gali et al., 2018.³¹

Figura 3. – Fluxograma com descrição da preparação do PRP. Fonte: inspirado em Dhurat, Sukesh, 2014.³²

PUNÇÃO VENOSA



Primeira Rodada: Coleta de cerca de 34 ml (8,5 ml cada x 4 tubos) de sangue total (WB) em tubos vacutainer anticoagulados



Segunda Rodada: Transferência da camada superior com a camada leucoplaquetária (buffy coat) para tubos estéreis vazios



Coleta de precipitados de plaquetas com poucos glóbulos vermelhos no fundo dos tubos



Homogeneização dos precipitados de plaquetas misturados no terço inferior do plasma, descartando os dois terços restantes.

Pronto para usar 5 ml de PRP homogeneizado

aceleração é ajustada para sedimentar certos constituintes celulares com base em diferentes gravidades específicas.

Existem muitas maneiras de preparar o PRP, o que pode ser feito pelo método PRP ou pelo método buffy coat³².

O fluxograma que constitui a Figura 3 explicita a preparação do PRP.

No método PRP, realiza-se uma centrifugação inicial, com o objetivo de separar os glóbulos vermelhos (RBC); em seguida, faz-se uma segunda centrifugação, para concentrar as plaquetas, que são suspensas no menor volume plasmático final. Na Figura 3, o fluxograma demonstra um processo de dupla centrifugação do PRP. O WB (sangue total) é, inicialmente, coletado em tubos que contêm anticoagulantes. A primeira etapa de rotação é feita em aceleração constante, com o objetivo de se separar os RBCs do volume WB restante. Após a primeira etapa de rotação, o WB se apresenta em três camadas: uma camada superior, que contém principalmente plaquetas e WBC, uma camada fina intermediária (buffy coat) que é rica em WBCs, e uma camada inferior, composta principalmente de RBCs. Na produção de PRP puro (P-PRP), a buffy coat superficial e a camada superior são transferidas para um tubo estéril vazio. Na produção de PRP rico em leucócitos (L-PRP), toda a camada leucocitária obtida e poucas hemácias são transferidas. Então, é realizada a segunda etapa de centrifugação, que deve ser apenas para auxiliar na formação de pelotas moles (plaquetas eritrocitárias) depositadas no fundo do tubo. A porção superior, que é composta principalmente de PPP (plasma pobre em plaquetas), é, então, removida. As “pelotas” são homogeneizadas no 1/3 inferior (5 ml de plasma) para criar o PRP (Platelet-Rich Plasma)³².

As células-tronco mesenquimais podem ser bem particularizadas por sua capacidade de autorregulação e diferenciação de múltiplas linhagens, como, por exemplo, nas linhagens osteogênicas. Nota-se ainda que os derivados da medula óssea possuem alto valor de prestabilidade frente a uma prerrogativa de que podem ser pouco despendidos na medicina contemporânea, sobretudo devido a sua relativa concretização. Estudiosos defendem a difusão do conhecimento acerca das aplicações dos derivados da medula óssea, bem como o treinamento de profissionais de saúde, em uma perspectiva transdisciplinar, para promover a medicina regenerativa de forma globalizada^{33,34}.

Acredita-se que há um amplo potencial de melhora no uso clínico em várias situações patológicas, sobretudo quando novos estudos genéticos e moleculares forem compreendidos e incorporados no contexto terapêutico.

Nesse contexto, estudos translacionais, pesquisas pré-clínicas e análises de sucessos recentes mostram um caminho racional para aprovação e implantação regulatória do uso de derivados da medula óssea como mais uma alternativa de tratamento³⁵.

Em suma, a medicina regenerativa do século 21 veio enriquecer as opções de cuidados para os pacientes. A aplicação de tecnologia inovadora possibilitará o desenvolvimento de caminhos anteriormente inimagináveis para determinadas doenças e deficiências graves. A proposta veio a democratizar os benefícios de saúde para todos. Pesquisa, educação continuada na busca de força de trabalho especializada, desenvolvimento integrado de forma multidisciplinar e a implementação de práticas

baseadas em evidências certamente estarão no contexto principal e inevitável na aplicabilidade da medicina regenerativa^{36,37}.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Face a essas considerações, pode-se concluir:

1. os derivados da medula óssea demonstram ser promissores na aplicação da medicina regenerativa;
2. a utilização das células-tronco na medicina regenerativa é um método de fácil manipulação e de baixo custo;
3. o uso clínico das células-tronco coletadas da medula óssea indica, até o momento, não haver efeitos colaterais e eventos adversos considerados graves;
4. possíveis mecanismos fisiopatológicos envolvidos poderão incrementar a aplicabilidade das células tronco na medicina regenerativa.
5. resultados futuros, trarão novas informações sobre o potencial terapêutico das células-tronco provenientes da medula óssea e, certamente, mostrarão sua importância na medicina regenerativa.

REFERÊNCIAS

1. Chien KR. Regenerative medicine and human models of human disease. *Nature*. 2008; 453:302-5. doi: 10.1038/nature07037
2. Inoue H, Yamanaka S. The use of induced pluripotent stem cells in drug development. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(5):655-61. doi: 10.1038/clpt.2011.38
3. Fahey MC, Wallace EM. Stem cells: research tools and clinical treatments. *J Paediatr Child Health*. 2011;47(9):672-75. doi: 10.1111/j.1440-1754.2011.02172.x
4. Purita J, Lana JFSD, Kolber M, Rodrigues BL, Mosaner T, Santos GS, et al. Bone marrow-derived products: a classification proposal—bone marrow aspirate, bone marrow aspirate concentrate or hybrid?. *World J Stem Cells*. 2020;12(4):241-50. doi: 10.4252/wjsc.v12.i4.241
5. Boulais PE, Frenette PS. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood*. 2015;125(17):2621-9. doi: 10.1182/blood-2014-09-570192
6. Sugaya H, Yoshioka T, Kato T, Taniguchi Y, Kumagai H, Hyodo K, et al. Comparative analysis of cellular and growth factor composition in bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma. *Bone Marrow Res*. 2018;1549526. doi: 10.1155/2018/1549826
7. Duncker DJ, Uitterdijk A, Van der Giessen WJ. Fat is not all bad: how to make good use of adipose tissue. *European heart j*. 2007;28(21):2565-7. doi: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm435
8. Salamanna F, Contartese D, Nicoli Aldini N, Barbanti Brodano G, Griffoni C, Gasbarrini A, et al. Bone marrow aspirate clot: A technical complication or a smart approach for musculoskeletal tissue regeneration? *J Cell Physiol*. 2018;233(4): 2723-32. doi: 10.1002/jcp.26065
9. Pierini M, Di Bella C, Dozza B, Frisoni T, Martella E, Bellotti C, et al. The posterior iliac crest outperforms the anterior iliac crest when obtaining mesenchymal stem cells from bone marrow. *J Bone Joint Surg Am*. 2013;95(12):1101-07. doi: 10.2106/JBJS.L.00429
10. Hernigou P, Homma Y, Flouzat Lachaniette CH, Poignard A, Allain J, Chevallier N, et al. Benefits of small volume and small syringe for bone marrow aspirations of mesenchymal stem cells. *Int Orthop*. 2013;37(11): 2279-87. doi: 10.1007/s00264-013-2017-z
11. Palta S, Saroa R, Palta A. "Overview of the coagulation system." *Indian J Anaesth*. 2014;58(5):515-23. doi:10.4103/0019-5049.144643
12. Hernigou P, Daltro G, Hernigou J. Hip osteonecrosis: stem cells for life or behead and arthroplasty?. *Int Orthop*. 2018;42(7):1425-8. doi: 10.1007/s00264-018-4026-4
13. Andriolo L, Merli G, Tobar C, Altamura SA, Kon E, Filaro G. Regenerative therapies increase survivorship of avascular necrosis of the femoral head: a systematic review and meta-analysis. *Int Orthop*. 2018 Jul;42(7):1689-704. doi: 10.1007/s00264-018-3787-0
14. Magga J, Savchenko E, Malm T, Rolova T, Pollari E, Valonen P, et al. Production of monocytic cells from bone marrow stem cells: therapeutic usage in Alzheimer's disease. *J Cell Mol Med*. 2012;16(5):1060-73. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01390.x
15. Perin EC, Silva GV, Zheng Y, Gahremanpour A, Canales J, Patel D, et al. Randomized, double-blind pilot study of transendocardial injection of autologous aldehyde dehydrogenase-bright stem cells in patients with ischemic heart failure. *Am Heart J*. 2012;163(3):415-21. doi: 10.1016/j.ahj.2011.11.020
16. Xi J, Zhang SC. Stem cells in development of therapeutics for Parkinson's disease: a perspective. *J Cell Biochem*. 2008;105(5):1153-60. doi: 10.1002/jcb.21916
17. Tzouveleakis A, Koliakos G, Ntoliou P, Baira I, Bouros E, Oikonomou A, et al. Stem cell therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: a protocol proposal. *J Transl Med*. 2011;9(182). doi.org/10.1186/1479-5876-9-182
18. Weiss DJ, Bertoncello I, Borok Z, Kim C,

- Panoskaltis-Mortari A, Reynolds S, et al. Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases. *Proc Am Thorac Soc* 2011;8(3):223-72. doi: 10.1513/pats.201012-071DW
19. Rashid ST, Corbineau S, Hannan N, Marciniak SJ, Miranda E, Alexander G, et al. Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells. *J Clin Invest*. 2010;120:3127-36. doi: 10.1172/JCI43122
 20. Cerletti M, Jurga S, Witczak CA, Hirshman MF, Shadrach JL, Goodyear LJ, et al. Highly efficient, functional engraftment of skeletal muscle stem cells in dystrophic muscles. *Cell*. 2008;134:37-47. doi: 10.1016/j.cell.2008.05.049
 21. Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30(1):9. doi: 10.1186/1756-9966-30-9
 22. McCormick JB, Huso HA. Stem cells and ethics: current issues. *J Cardiovasc Transl Res*. 2010;3(2):122-7. doi: 10.1007/s12265-009-9155-0
 23. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins. *Cell Tissue Res*. 2010; 339(1):269-80. doi: 10.1007/s00441-009-0834-6
 24. De Melo BAG, França CG, Dávila JL, Batista NA, Caliar-Oliveira C, D'Ávila MA, et al. Hyaluronic acid and fibrin from L-PRP form semi-IPNs with tunable properties suitable for use in regenerative medicine. *Mater Sci Eng*. 2020;109:110547. doi: 10.1016/j.msec. 2019.110547
 25. Mantripragada VP, Piuizzi NS, George J, Bova W, Ng M, Boehm C, et al. Reliable assessment of bone marrow and bone marrow concentrates using automated hematology analyzer. *Regen Med*. 2019;14(7):639-46. doi:10.2217/rme-2018-0173
 26. Cable J, Fuchs E, Weissman I, Jasper H, Glass D, Rando TA, et al. Adult stem cells and regenerative medicine-a symposium report. *Ann N Y Acad Sci*. 2020;1462(1):27-36. doi:10.1111/nyas.14243
 27. Watanabe TK. Uma revisão da terapia com células-tronco para lesões cerebrais adquiridas e doenças neurodegenerativas do sistema nervoso central. *PM R*. 2018;10(9 Supl 2):S151-6. doi:10.1016/j.pmrj.2018.07.008
 28. Krenn V, Müller S, Krenn VT, Hempfling H. Pathophysiologie der aseptischen Hüftkopfnekrose: pathogenese und histopathologische differenzialdiagnostik [Patofisiologia da necrose da cabeça femoral asséptica: Patogênese e diagnóstico diferencial histopatológico]. *Ortopédico*. 2018;47(9):710-6. doi:10.1007/s00132-018-3608-6
 29. Balistreri CR, De Falco E, Bordin A, Maslova O, Koliada A, Vaiserman A. Stem cell therapy: old challenges and new solutions. *Mol Biol Rep*. 2020;47(4):3117-31. doi:10.1007/s11033-020-05353-2
 30. Rodríguez-Fuentes DE, Fernández-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-Barrera SA, Caplan AI, Barrera-Saldaña HA. Mesenchymal stem cells current clinical applications: a systematic review. *Arch Med Res*. 2021;52(1):93101. doi:10.1016/j.arcmed.2020.08.006
 31. Gali RS, Chinnaswamy R, Devireddy SK, Shaik MV, Kumar RVK, Kanubaddy SR, et al. Concentrated bone marrow aspirate-coated hydroxyapatite for reconstruction of small-to-moderate-sized mandibular pathologies. *Contemp Clin Dent*.2018;9(4):535-40. doi:10.4103/ccd.ccd_745_18
 32. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg*. 2014;7(4):189-97. doi:10.4103/0974-2077.150734
 33. Galipeau J, Sensébé L. Mesenchymal stromal cells: clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell* 2018;22(6):824-33. doi:10.1016/j.stem.2018.05.004
 34. Kim SW, Zhu GQ, Bae WJ. Mesenchymal stem cells treatment for erectile dysfunction in diabetic rats. *Sex Med Rev*. 2020;8(1):114-21. doi:10.1016/j.sxmr.2019.09.003
 35. Wyles SP, Monie DD, Paradise CR, Meyer FB, Hayden RE, Terzic A. Emerging workforce readiness in regenerative healthcare. *Regen Med*. 2021;16(3):197-206. doi:10.2217/rme-2020-0137
 36. Ronfard V, Vertès AA, May MH, Dupraz A, van Dyke ME, Bayon Y. Evaluating the past, present, and future of regenerative medicine: a global view. *Tissue Eng Part B Rev*. 2017;23(2):199-210. doi:10.1089/ten.TEB.2016.0291
 37. Wang Y, Jang YY. From cells to organs: the present and future of regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol*. 2022;1376:135-49. doi:10.1007/5584_2021_657