

TERAPIA CELULAR DA PSEUDOARTROSE

CELL THERAPY OF PSEUDARTHROSIS

RICARDO BASTOS FILHO¹, SIMONE LERMONTOV², RADOVAN BOROJEVIC³, PAULO CEZAR SCHOTT⁴, VINICIUS SCHOTT GAMEIRO⁴, JOSÉ MAURO GRANJEIRO⁵

RESUMO

Objetivo: Analisar a segurança e a eficácia da infusão percutânea no foco da pseudoartrose do aspirado de medula óssea total e da infusão de células mononucleares purificadas e concentradas. **Métodos:** Foram tratados seis pacientes portadores de pseudoartrose de tibia ou de fêmur. Quatro receberam infusão do aspirado de medula óssea autóloga total obtida da crista ilíaca e dois receberam o aspirado de medula óssea autóloga processada com Sepax[®]. Não foi alterado o método de fixação primária ou exposto o foco da pseudoartrose. Realizou-se exame físico e avaliação radiográfica 2, 4 e 6 meses após o procedimento. Após a consolidação, foi avaliado o grau de satisfação do paciente. **Resultados:** Não verificamos qualquer complicação decorrente dos procedimentos. No primeiro grupo (aspirado total) a consolidação foi obtida entre três e vinte e quatro semanas e, no segundo grupo (Sepax[®]), entre 12 e 16 semanas. O grau de satisfação dos pacientes teve a média aumentada de 2,75 para 9 no grupo I e de 1 para 8,5 no grupo II ($p=0,0156$). **Conclusão:** Concluímos que o tratamento das pseudoartroses com os métodos avaliados mostraram-se eficazes e seguros independente do método de estabilização utilizado. **Nível de Evidência II, Estudo Prospectivo Comparativo.**

Descritores: Pseudoartrose. Células da medula óssea. Células progenitoras. Tibia. Fêmur. Consolidação da fratura.

ABSTRACT

Objective: To assess the safety and efficiency of cell therapy for pseudarthrosis. Implant of the bone marrow aspirate was compared to mononuclear cells purified extemporaneously using the Sepax[®] equipment. **Methods:** Six patients with nonunion of the tibia or femur were treated. Four received a percutaneous infusion of autologous bone marrow aspirated from the iliac crest, and two received autologous bone marrow mononuclear cells separated from the aspirate with the Sepax[®]. The primary fixation method was unchanged, and the nonunion focus was not exposed. Physical examination and radiographies were performed 2, 4 and 6 months after the treatment by the same physician. After consolidation of the fracture the satisfaction of the patients was estimated using the adapted QALY scale. **Results:** No complications occurred as a result of the referred procedures. Bone consolidation was obtained in all cases within 3 to 24 weeks. The degree of patient satisfaction before and after bone consolidation was assessed, with the average value increasing from two to nine ($p=0.0156$). **Conclusion:** We conclude that the proposed method is effective and safe for the treatment of nonunion of long bones regardless of the stabilization method used. **Level of Evidence II, Prospective Comparative Study.**

Keywords: Pseudarthrosis. Bone marrow cells. Stem cells. Tibia. Femur. Fracture healing.

Citação: BastosFilho R, Lermontov S, Borojevic R, Schott PC, Gameiro VS, Granjeiro JM. Terapia celular da pseudoartrose. Acta Ortop Bras. [online]. 2012;20(5): 270-3. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Bastos Filho R, Lermontov S, Borojevic R, Schott PC, Gameiro VS, Granjeiro JM. Cell therapy of pseudarthrosis. Acta Ortop Bras. [online]. 2012;20(5): 270-3. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

Apesar de novos avanços tecnológicos no campo da cirurgia traumatológica, ainda é desafiador tratar um grupo de fraturas que apresentam alterações no processo de consolidação e culminam em pseudoartrose. Estima-se que cerca de 5% das fraturas de ossos longos evoluem para esta disfunção do processo de consolidação.¹

A enxertia óssea autóloga tem sido a técnica cirúrgica mais utilizada para o tratamento dessa patologia. O osso esponjoso é utilizado por seu alto potencial osteoindutor e osteocondutor, sendo retirado mais comumente da crista ilíaca² e continuada sendo o padrão-ouro comparativamente a qualquer outro tipo de enxerto ou substituto ósseo. Apesar disso, outras tecnologias venham sendo desenvolvidas, como o uso da proteína morfogenética óssea (BMP)³ para fusão espinal.⁴ A principal desvantagem da

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense – Niterói, RJ, Brasil
2. Escola de Enfermagem, Universidade Federal Fluminense – Niterói, RJ, Brasil.
3. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
4. Departamento de Cirurgia Geral e Especializada, Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense - Niterói, RJ, Brasil
5. Núcleo de Terapia Celular e Instituto de Biologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense - Niterói, RJ, Brasil.

Trabalho realizado no Hospital Universitário Antônio Pedro, UFF - Niterói, RJ, Brasil.

Correspondência: José Mauro Granjeiro. Núcleo de Terapia Celular, Instituto de Biologia e Hospital Universitário Antônio Pedro, Rua Marquês do Paraná, 303, 4º andar. Emergência. Unidade de Pesquisa Clínica, Niterói, RJ, Brasil, CEP: 24.033-900. jmgranjeiro@vm.uff.br

Artigo recebido em 24/11/2010, aprovado em 02/12/2010.

enxertia óssea autóloga é a morbidade do sítio doador, com risco de complicações, tais como dor, lesões neurovasculares, fraturas, hematoma, infecção, hérnias, distúrbio de marcha, alterações estéticas, instabilidade da sacroilíaca e lesão uretral.^{5,6}

A medula óssea fornece células mesenquimais e fatores de crescimento necessários para a consolidação óssea. A capacidade osteogênica da medula óssea foi primeiramente demonstrada em coelhos em 1869, por Goujon.⁷ Enxerto de aspirado percutâneo de medula óssea é um tratamento minimamente invasivo, com efetividade comprovada para o tratamento de pseudoartroses atroficas, com poucas complicações relatadas.⁸⁻¹²

A evolução dos dispositivos médicos aplicados à terapia celular de doenças crônicas e traumáticas é evidente nos últimos anos. Um exemplo é o sistema automatizado e fechado para a separação e a concentração da fração de células mononucleares obtidas do sangue periférico, do sangue do cordão umbilical ou do aspirado de medula óssea (Sepax®).¹³⁻¹⁵ Tal dispositivo visa maximizar o potencial terapêutico das células progenitoras adultas, minimizando o fator humano e aumentando a reprodutibilidade do processo de isolamento das células progenitoras hematopoiéticas e mesenquimais.

A infusão do aspirado de medula óssea autóloga para tratamento de patologias como necrose asséptica de cabeça femoral e pseudoartroses vem sendo realizado com grande sucesso, cuja eficácia parece estar relacionada à concentração de células progenitoras no enxerto. Foi demonstrado que a infusão de enxerto de medula óssea com menos de 1000 células progenitoras cm³ não resultou em consolidação e que mais de 30.000 células progenitoras no total são requeridas para o sucesso da terapia.¹⁶⁻²⁰ Contudo, estes pesquisadores afirmam não poderem saber, a partir das conclusões de seus estudos, se o mesmo número de células em um maior volume e sem concentração seria igualmente eficaz. Desta forma, o objetivo deste estudo foi analisar a segurança e a eficácia da técnica de infusão percutânea no foco da pseudoartrose do aspirado de medula óssea autóloga simples e da infusão do aspirado tratado com o sistema de separação e concentração de células mononucleares Sepax®.

MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense sob o número 64/00. Os sujeitos da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizando sua participação no estudo.

Foram incluídos indivíduos com idade superior a 18 anos, portadores de pseudoartrose não infectada de ossos longos com espaço entre os fragmentos de até 10 milímetros nas radiografias simples em duas incidências (ântero-posterior e perfil), tratados ou não com alguma forma de fixação.

Foram excluídos indivíduos que apresentavam perdas ósseas ou diástase maior do que 10 milímetros, ausência de cobertura cutânea do foco de fratura, deformidade angular ou encurtamento que necessitasse de tratamento, pacientes com infecção no local ou outras comorbidades que contra-indicassem o procedimento cirúrgico.

Características da amostra

Portadores (n=6) de pseudoartrose do fêmur e da tíbia estabilizados (aparelho gessado, haste intramedular ou fixador externo) foram tratados no Hospital Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense no período entre junho de 2008 e fevereiro de 2009. A idade dos pacientes variou de 21 a 59 anos.

Cinco pacientes eram do sexo masculino e um era do sexo feminino. Três tinham história de tabagismo, nenhum era diabético e nem estava em uso de agente farmacológico que afetasse o

metabolismo ósseo. Cinco tinham a tíbia e um tinha o fêmur como osso envolvido. Entre as pseudoartroses de tíbia, duas estavam estabilizadas com fixador externo, duas com aparelho gessado e uma não apresentava qualquer tipo de fixação, estando este paciente deambulando com duas muletas e sem carga no membro acometido. A pseudoartrose de fêmur estava estabilizada com haste intramedular. Cinco pacientes apresentavam pseudoartrose decorrente de fratura exposta. Estes foram tratados cirurgicamente, nas primeiras 24 horas após o trauma, com lavagem mecânico-cirúrgica, desbridamento e fixação da fratura. O tempo de pseudoartrose variou entre 24 e 136 semanas (Tabelas 1 e 2). Quatro pacientes selecionados aleatoriamente foram submetidos ao procedimento com aspirado de medula óssea total e injeção no foco da pseudoartrose (grupo I). O grupo II foi formado também de maneira aleatória por dois pacientes os quais o aspirado total foi processado no Sepax® para a separação e a concentração das células mononucleares e posterior injeção no foco de pseudoartrose. Nenhum dos pacientes teve conhecimento de qual procedimento seria realizado no dia da cirurgia nem no acompanhamento pós-operatório.

Tabela 1. Grupo I: Aspirado de medula óssea simples - perfil dos pacientes e avaliação da satisfação com o tratamento (QALY).

Paciente	Osso acometido	Tempo de pseudoartrose (semanas)	Tempo de consolidação (semanas)	Grau de satisfação antes da cirurgia	Grau de satisfação após a cirurgia
I	Fêmur	56	24	5	8
II	Tíbia	24	03	3	10
IV	Tíbia	136	16	3	9
V	Tíbia	32	12	0	9
Médias:		62	13,75	2,75	9

Tabela 2. Grupo II: Sepax - perfil dos pacientes e avaliação da satisfação com o tratamento (QALY).

Paciente	Osso acometido	Tempo de pseudoartrose (semanas)	Tempo de consolidação (semanas)	Grau de satisfação antes da cirurgia	Grau de satisfação após a cirurgia
III	Tíbia	68	16	0	8
VI	Tíbia	68	12	2	9
Médias:		68	14	1	8,5

Técnica operatória

A técnica utilizada para retirada do aspirado foi similar à descrita para procedimentos oncológicos e hematológicos para transplante de medula óssea.^{11,12} Os pacientes foram posicionados em decúbito ventral após anestesia raquimedular. Uma agulha de aspiração de medula óssea 11G X 10 cm foi introduzida manualmente na crista ilíaca posterior. A medula foi aspirada com seringa heparinizada até um volume entre 2 e 4 ml. (Figura 1) A agulha foi reposicionada após cada punção para evitar a aspiração de sangue venoso. As aspirações foram continuadas, utilizando a mesma penetração na pele ou mudando o local quando necessário. O material aspirado era colocado em um recipiente heparinizado. Uma quantidade entre 100 e 110 ml foi obtida para cada paciente. Após a obtenção do material da medula óssea, uma agulha similar foi posicionada no foco da pseudoartrose e sua posição confirmada por controle de imagem. (Figura 2) Foram escolhidas para a enxertia a região posterior da tíbia e a região lateral do fêmur. Em quatro pacientes, o aspirado foi injetado em volumes de 15 a 20 ml de cada vez, até que um total de 100 ml fosse introduzido



Figura 1. Técnica de aspiração da medula óssea.



Figura 2. Controle por imagem da infusão do aspirado de medula óssea.

no foco da pseudoartrose. Em outros dois pacientes, o aspirado total (100 ml) foi processado no sistema Sepax® para isolamento e concentração de células mononucleares progenitoras e 20 ml foi infundido no foco da pseudoartrose.

O foco de fratura não foi exposto por acessos em nenhum dos casos.

Avaliação das pseudoartroses após a enxertia percutânea

Todos os pacientes foram acompanhados utilizando o mesmo protocolo durante o pós-operatório, através de entrevista, exame físico e avaliação radiográfica realizados 2, 4 e 6 meses após o procedimento por um médico ortopedista que desconhecia o procedimento realizado (Grupos I e II).

O exame físico avaliou dor, sensação de estabilidade, capacidade de deambulação com duas, uma ou sem muletas. Os critérios clínicos incluíam tolerância à carga total e ausência de dor à palpção no local da fratura. O exame radiográfico utilizou incidências ântero-posterior, lateral e oblíqua. Apenas foi permitida carga parcial após o aparecimento do calo ósseo e com sinais de estabilidade ao exame físico.

O tratamento foi considerado bem sucedido quando observamos

o aparecimento do calo ósseo ao exame radiográfico, franca estabilidade ao exame clínico e ausência de dor à deambulação com carga total. Foi avaliado e registrado qualquer efeito colateral decorrente do procedimento. O protocolo clínico definido estabelecia que, se o paciente não apresentasse sinais de consolidação óssea seis meses após o procedimento, uma segunda intervenção seria indicada, situação considerada falha do tratamento.

Na entrevista realizada após a observação da consolidação óssea questionou-se o grau de satisfação do paciente, o qual comparava seu membro acometido antes e depois do procedimento através de graduação numérica. Utilizou-se uma escala de 0 a 10, na qual 0 significa satisfação mínima e 10 representa satisfação máxima. As médias e desvios padrão obtidos, independente do tratamento ao qual o paciente foi submetido, foram submetidos ao *Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test*, considerando a diferença significativa se $p < 0,05$.

RESULTADOS

Nenhum dos pacientes apresentou complicações anestésicas. Não ocorreu queda na saturação de oxigênio, arritmia ou alteração na pressão arterial durante os procedimentos. Não houve casos de síndrome compartimental após a injeção do aspirado de medula óssea. Nenhum paciente apresentou hematoma ou dor crônica no local da injeção.

A consolidação óssea foi obtida em todos os pacientes.

No Grupo I foi observado calo ósseo nas radiografias entre 3 e 24 semanas, com média de 13,8 semanas.

No Grupo II o calo ósseo foi observado nos exames radiográficos entre 12 e 16 semanas com média de 14 semanas.

A média dos valores do grau de satisfação dos pacientes subiu de 2,75 para 9 no Grupo I e de 1 para 8,5 no Grupo II (Tabelas 1 e 2, $p=0,0156$ – *Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test*).

DISCUSSÃO

O tratamento das disfunções do mecanismo de consolidação do esqueleto humano constitui um importante desafio para o cirurgião ortopédico. A aspiração de medula óssea do íliaco e sua infusão no foco da pseudoartrose vêm a ser uma alternativa menos invasiva para o tratamento dessa patologia. Healey, et al.¹⁰ em estudo anterior demonstraram remissão da pseudoartrose em 5 de 8 pacientes em circunstância crítica (ressecção de sarcoma e quimioterapia) após infusão percutânea de medula óssea.

O presente estudo confirma que a infusão de aspirado de medula óssea total ou processada no Sepax® é uma forma de abordagem segura para o tratamento das pseudoartroses de ossos longos, uma vez que não foram observadas complicações locais ou sistêmicas. Uma possível complicação seria a embolia pulmonar durante a injeção do aspirado de medula óssea bruta devido ao volume injetado e presença de material gorduroso. Essa complicação não foi observada quando injetamos volumes maiores de medula óssea nos pacientes onde o aspirado não foi tratado com Sepax®. Esta observação é sustentada também pela observação de ausência de embolia gordurosa nos casos de fraturas fechadas de ossos longos que têm potencial de sangramento muito maior do que o volume injetado no foco de pseudoartrose no presente estudo. Hernigou, em estudo anterior também demonstrou a segurança desse procedimento no tratamento de 60 pseudoartroses atroficas de tíbia, não observando caso de embolia gordurosa.¹⁹ Ele atribui a ausência desta complicação por ter filtrado o aspirado da medula, separando e desprezando gordura durante o processo de separação e concentração celular. De 60 pacientes tratados, Hernigou obteve 53 casos de consolidação. Ele considera significativa correlação entre o sucesso do tratamento com o

número de células progenitoras no aspirado.²⁰ É válido mencionar que a média obtida para o aspirado de medula óssea puro varia de 12 a 1224 células progenitoras/cm³. Esta variação depende essencialmente da quantidade do sangue periférico no aspirado medular, salientando a qualidade de procedimento de aspiração como crítico para o sucesso da terapia.

No presente estudo foi demonstrada a consolidação das pseudoartroses em todos os casos, independentemente do uso ou não do sistema Sepax[®]. Este resultado confirma a eficácia da técnica.⁹⁻¹² A diminuição do volume injetado pelo processamento Sepax[®] é relevante nos procedimentos onde a introdução de mais de 100 ml de aspirado pode ser impeditiva, como é o caso da terapia da necrose de cabeça de fêmur,²¹ em reparo ósseo de pacientes menores ou ossos de menor tamanho. Teoricamente, encontramos como desvantagem a este sistema o fato de que a injeção de hemácias com a liberação posterior do ferro pode ser condição adversa à proliferação celular, como observada *in vitro*. No método de infusão de aspirado puro da medula óssea, a injeção de granulócitos, eliminados no processamento Sepax[®], pode ajudar na prevenção da osteomielite (observações preliminares, não publicadas).

Ainda não é possível determinar o mecanismo exato de indução da formação do calo ósseo pela infusão do aspirado. A consolidação óssea ocorreu mesmo sem a remoção do tecido fibroso interposto na fratura, uma vez que nenhum paciente teve o foco de pseudoartrose exposto por incisão. À luz do conhecimento atual é possível supor que a formação óssea deveu-se à diferenciação das células progenitoras em osteoblastos ativos, resultando na formação de matriz óssea, e não à diferenciação do tecido fibroso interposto no foco da pseudoartrose em osso. O tecido fibroso denso pode reter as células injetadas e funcionar como arcabouço tridimensional para ossificação. Acreditamos também que o sucesso do tratamento dos pacientes do grupo I deve-se a ação de substâncias osteoindutoras como fatores de crescimento e na ação inflamatória causada pelas hemácias existentes no aspirado de medula total. Esta ação inflamatória teria influência na reativação biológica do processo de consolidação óssea que se encontrava estagnado. Ainda pudemos constatar que o método

de estabilização (aparelho gessado, haste intramedular e fixador externo) da fratura provavelmente não interferiu no resultado final, sendo a infusão percutânea do aspirado de medula óssea a única intervenção realizada. Assim, para cada paciente, manteve-se o mesmo método de fixação a infusão das células autógenas. Estudos posteriores com um maior número de pacientes serão necessários para se confirmar esta observação.

Um aspecto muito importante observado neste estudo foi a grande elevação na percepção da qualidade de vida dos pacientes, independente do tratamento realizado, refletindo o impacto desse tipo de tratamento na qualidade de vida dos indivíduos afetados.

CONCLUSÃO

A enxertia percutânea de células mesenquimais progenitoras provenientes da medula óssea é um método efetivo e seguro para o tratamento da pseudoartrose de ossos longos, capaz de imprimir grande melhoria na percepção da qualidade de vida dos pacientes afetados. Os resultados parecem ser similares com a utilização de aspirado total e do aspirado tratado com aparelho de Sepax[®] independentemente do método de estabilização utilizado. É uma alternativa de tratamento minimamente invasiva que apresenta excelente alternativa para o tratamento de pseudoartroses de ossos longos. Estudos com casuística maior é o próximo passo para melhor compreender os limites e benefícios das técnicas.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pelo Grupo Vida, Belo Horizonte, Brasil, e Excellion Serviços Biomédicos, Petrópolis, Brasil, mas sem qualquer influência na condução e análise do mesmo. Dr. Radovan Borjevic e José Mauro Granjeiro foram parcialmente financiados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Cientista do Nosso Estado), Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde (DECIT/MS), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP). Agradecimento especial a Dra Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira pela grande contribuição neste projeto.

REFERÊNCIAS

1. Reis FB, Hubngria Neto JS, Pires RES. Pseudoartrose. Rev Bras Ortop. 2005;40(3):79-88.
2. Conway JD. Autograft and nonunions: morbidity with intramedullary bone graft versus iliac crest bone graft. Orthop Clin North Am. 2010;41(1):75-84.
3. Granjeiro JM, Oliveira RC, Bustos-Valenzuela JC, Sogayar MC, Taga R. Bone morphogenetic proteins: from structure to clinical use. Braz J Med Biol Res. 2005;38(10):1463-73.
4. Papakostidis C, Kontakis G, Bhandari M, Giannoudis PV. Efficacy of autologous iliac crest bone graft and bone morphogenetic proteins for posterolateral fusion of lumbar spine: a meta-analysis of the results. Spine (Phila Pa 1976). 2008;33(19):E680-92.
5. Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, Greenfield ML. Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment. Clin Orthop Relat Res. 1997;(339):76-81.
6. Kim DH, Rhim R, Li L, Martha J, Swaim BH, Banco RJ et al. Prospective study of iliac crest bone graft harvest site pain and morbidity. Spine J. 2009;9(11):886-92.
7. Goujon E. Recherches expérimentales sur les propriétés physiologiques de La moelle des os. J Anat Physiol. 1869;6:399-412.
8. Connolly J, Guse R, Lippiello L, Dehne R. Development of an osteogenic bone-marrow preparation. J Bone Joint Surg Am. 1989;71(5):684-91.
9. Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. Clin Orthop Relat Res. 1991;(266):259-70.
10. Healey JH, Zimmerman PA, McDonnell JM, Lane JM. Percutaneous bone marrow grafting of delayed union and nonunion in cancer patients. Clin Orthop Relat Res. 1990;(256):280-5.
11. Garg NK, Gaur S, Sharma S. Percutaneous autogenous bone marrow grafting in 20 cases of ununited fracture. Acta Orthop Scand. 1993;64(6):671-2.
12. Paley D, Young MC, Wiley AM, Fornasier VL, Jackson RW. Percutaneous bone marrow grafting of fractures and bony defects. An experimental study in rabbits. Clin Orthop Relat Res. 1986;(208):300-12.
13. Aktas M, Radke TF, Strauer BE, Wernet P, Kogler G. Separation of adult bone marrow mononuclear cells using the automated closed separation system Sepax. Cytotherapy. 2008;10(2):203-11.
14. Lapierre V, Pellegrini N, Bardey I, Malugani C, Saas P, Garnache F et al. Mad-dens S. Cord blood volume reduction using an automated system (Sepax) vs. a semi-automated system (Optipress II) and a manual method (hydroxyethyl starch sedimentation) for routine cord blood banking: a comparative study. Cytotherapy. 2007;9(2):165-9.
15. Rodríguez L, Azqueta C, Azzalin S, García J, Querol S. Washing of cord blood grafts after thawing: high cell recovery using an automated and closed system. Vox Sang. 2004;87(3):165-72.
16. Thomas ED. Bone marrow transplantation. In: Bach FJ, Good R, editors. Clinical immunobiology. New York: Academic Press; 1978. p. 1-32.
17. Thomas ED, Storb R. Technique for human marrow grafting. Blood. 1970;36(4):507-15.
18. Faucett SC, Genuario JW, Tosteson AN, Koval KJ. Is prophylactic fixation a cost-effective method to prevent a future contralateral fragility hip fracture? J Orthop Trauma. 2010;24(2):65-74.
19. Hernigou P, Mathieu G, Poignard A, Manicom O, Beaujean F, Rouard H. Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Surgical technique. J Bone Joint Surg Am. 2006;88(Suppl 1 Pt 2):322-7.
20. Hernigou P, Poignard A, Beaujean F, Rouard H. Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Influence of the number and concentration of progenitor cells. J Bone Joint Surg Am. 2005;87(7):1430-7.
21. Daltro GC, Fortuna VA, Araujo MAS, Lessa PIF, Batista Sobrinho UA, Borjevic R. Tratamento de osteonecrose da cabeça femoral com células progenitoras autólogas em anemia falciforme. Acta Ortop Bras. 2008;16(1):23-8.