

**THIAGO BATISTA FALEIRO**

Avaliação clínica e por ressonância magnética do tratamento da osteonecrose da cabeça umeral com implante de células mononucleares da medula óssea em pacientes com doença falciforme

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador : Prof. Dr. Antônio Carlos Guastaldi  
Co-Orientador: Prof. Dr. Gildásio de Cerqueira Daltro

Araraquara  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA

F187a Faleiro, Thiago Batista  
Avaliação clínica e por ressonância magnética do tratamento da osteonecrose da cabeça umeral com implante de células mononucleares da medula óssea em pacientes com doença falciforme / Thiago Batista Faleiro. – Salvador : [s.n.], 2019  
59 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Antônio Carlos Guastaldi  
Coorientador: Gildásio Daltro

1. Medicina. 2. Biotecnologia. 3. Terapia celular.  
4. Osteonecrose. 5. Anemia falciforme. I. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** "Avaliação clínica e por ressonância magnética do tratamento da osteonecrose da cabeça umeral com implante de células mononucleares da medula óssea em pacientes com doença falciforme"

**AUTOR: THIAGO BATISTA FALEIRO**

**ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS GUASTALDI**

**COORIENTADOR: GILDÁSIO DE CERQUEIRA DALTRO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GILDÁSIO DE CERQUEIRA DALTRO

Departamento de Cirurgia Experimental e Especialidades Cirúrgicas / Universidade Federal da Bahia - UFBA - Salvador

  
Prof. Dr. ADEMÁRIO GALVÃO SPÍNOLA

Instituto de Saúde Coletiva / Universidade Federal da Bahia - UFBA - Salvador

  
Prof. Dr. LUIS SCHIPER

Departamento de Cirurgia Experimental e Especialidades Cirúrgicas / Universidade Federal da Bahia - UFBA - Salvador

Araraquara, 25 de abril de 2019

## **DADOS CURRICULARES**

**Nome:** Thiago Batista Faleiro

**Nome em citações bibliográficas:** FALEIRO, T. B.

**Endereço profissional:** Universidade Federal da Bahia, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Serviço de Ortopedia e Traumatologia. Rua Augusto Viana, s/nº Canela. 40110060 - Salvador, BA - Brasil.

**Telefone:** (71) 32838136

**Endereço eletrônico:** [thiagofaleiro@yahoo.com.br](mailto:thiagofaleiro@yahoo.com.br)

### **Formação acadêmica/ Titulação:**

**2008 – 2011** - Especialização - Residência médica.  
HOSPITAL NAVAL MARCÍLIO DIAS, HNMD, Brasil. Residência médica em: ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

**2012 – 2013** - Especialização em MEDICINA E CIRURGIA DO PÉ E TORNOZELO.  
Santa Casa de Misericórdia da Bahia, SCMB, Brasil.  
Título: Viscosuplementação em osteoartrite do tornozelo: revisão sistemática.  
Orientador: Jorge Eduardo de Shoucair Jambeiro.

**2001 – 2007** - Graduação em Medicina. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.

## **ATUAÇÃO PROFISSIONAL**

### **1. Obras Sociais Irmã Dulce**

2015-Atual

Vínculo: MÉDICO ORTOPEDISTA, Enquadramento Funcional: MÉDICO ORTOPEDISTA, Carga horária: 12

### **2. Hospital Universitário Professor Edgard Santos, HUPES, Brasil.**

2015-Atual

Vínculo: MÉDICO ORTOPEDISTA, Enquadramento Funcional: MÉDICO ORTOPEDISTA  
Carga horária: 24

### **3. Ministério da Defesa - Comando da Marinha, MIN. DEFESA CM, Brasil**

2009-2015

Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Capitão Tenente, Carga horária: 60

#### **4. Hospital Estadual Azevedo Lima, HEAL, Brasil**

2009-2012

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Médico Ortopedista, Carga horária: 24

#### **ÁREAS DE ATUAÇÃO**

- Grande área: Ciências Biológicas / Área: Medicina / Subárea: Ortopedia

#### **IDIOMAS:**

##### **Inglês**

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

##### **Espanhol**

Compreende Bem, Fala Razoavelmente, Lê Bem Escreve Razoavelmente.

#### **PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

1- FALEIRO, T. B.; ROSARIO, D. A. V. ; FRANCO, B. A. F. M. ; FORTUNA, V. A. ; LEO, L. F. S. ; PEREIRA, M. R. G. ; DALTRO, G. . Sociodemographic and Functional Evaluation of Patients with Osteonecrosis of the Femoral Head Secondary to Sickle Cell Disease. *Journal of Orthopedics and Trauma Research*, v. 2, p. 3-6, 2019.

2- DALTRO, GILDASIO ; FRANCO, BRUNO ADELMO ; FALEIRO, THIAGO BATISTA ; ROSÁRIO, DAVI ARAUJO VEIGA ; DALTRO, PAULA BRAGA ; FORTUNA, VITOR . Osteonecrosis in sickle cell disease patients from Bahia, Brazil: a cross-sectional study. *INTERNATIONAL ORTHOPAEDICS* , v. 1, p. 1-10, 2018.

3-DALTRO, GILDASIO ; FRANCO, BRUNO ADELMO ; FALEIRO, THIAGO BATISTA ; ROSÁRIO, DAVI ARAUJO VEIGA ; DALTRO, PAULA BRAGA ; MEYER, ROBERTO ; FORTUNA, VITOR . 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, p. 2, 2018.

4-DAVI, ANDREA BOMFIM ; SANTOS, CLEIDIANE DAVI DOS ; CALADO, CARLOS ANTÔNIO CABRAL CORDEIRO ; ROHRS, ROSEANE MOTA SANTANA ; FALEIRO, THIAGO BATISTA; SCHULZ, RENATA DA SILVA ; ARAÚJO, ANNE JACOB DE SOUZA ; JUNIOR, WALTAMY DA SILVA MOTA . Infarto agudo do miocárdio e trabalho: Análise de uma década de auxílio doença. *REVISTA ELETRÔNICA ACERVO EM SAÚDE*, v. 11, p.

e214-222, 2018.

5-TINEL, RENAN DOURADO ; FALEIRO, THIAGO BATISTA ; VEIGA, DAVI ; SCHULZ, RS; FRANCO, BRUNO ADELMIRO FERREIRA MENDES ; DALTRO, GILDÁSIO DE CERQUEIRA. Prevalence and causes of non-traumatic knee injuries in cyclists: a systematic review. International Journal Of Medical Science And Clinical Invention, v. 4, p. 2632-2638, 2017.

6-FALEIRO, T. B.; MEIRELLES A.V. ; REZENDE R.G. ; FERREIRA H.R. ; DALTRO, G. C. ; SCHULZ, R. S. . Subtotal Calcanectomy for the Treatment of Chronic Ulcer Associated with Osteomyelitis: A Case Report. Journal of Orthopedic Case Reports, v. 7, p. 71-74, 2017.

7-VIEIRA, L. A. G. ; FALEIRO, T. B. ; MEIRELLES A.V. ; ALCANTARA JUNIOR, J. E. . Bilateral clavicular hypoplasia and cleidocranial dysplasia: Case report. International Journal of Medical Science and Clinical Inventions, v. 4, p. 3253-3255, 2017.

8- FALEIRO, THIAGO BATISTA; SCHULZ, RENATA DA SILVA ; JAMBEIRO, JORGE EDUARDO DE SCHOUCAIR ; TAVARES NETO, ANTERO ; DELMONTE, FERNANDO MOREIRA ; DALTRO, GILDÁSIO DE CERQUEIRA . VISCOSUPPLEMENTATION IN ANKLE OSTEOARTHRITIS: A SYSTEMATIC REVIEW. Acta Ortopédica Brasileirav. 24, p. 52-54, 2016.

9-FALEIRO, T. B.; DALTRO, G. ; GUEDES, A. ; SCHULZ, RENATA ; OLIVEIRA SOBRINHO, P. C. ; TORALLES, M. B. P. . The impact of foot and ankle injuries on social security. Scientific Journal of the Foot & Ankle, v. 10, p. 21-25, 2016.

10-FALEIRO, T. B.; DALTRO, G. C. ; GUEDES, A. ; SCHULZ, R. S. ; JAMBEIRO, J. E. S. ; TORALLES, M. B. P. . Orthopedic approach of the leprous foot. THE FOOT AND ANKLE ONLINE JOURNAL, v. 9, p. 5-9, 2016.

11-TAVARES NETO, A. ; FALEIRO, T. B. ; DELMONTE, F. M. ; JAMBEIRO, J. E. S. ; SCHULZ, R. S. . LOMBALGIA NA ATIVIDADE POLICIAL MILITAR: ANÁLISE DA PREVALÊNCIA, REPERCUSSÕES LABORATIVAS E CUSTO INDIRETO. Revista Baiana de Saúde Publica, v. 37, p. 365-374, 2014.

12-BHERENDT, C. ; FALEIRO, T. B. ; SCHULZ, R. S. ; SILVA B. O. ; FILHO E. Q. .P. . Repruducibility of tronzo and ao/asif classifications for transtrochanteric fractures. Acta Ortopédica Brasileira (Impresso) , v. 22, p. 275-277, 2014.

13-SCHULZ, RENATA ; SANTANA, ROSIMERE ; FALEIRO, THIAGO ; CARVALHO, MAGALI ; GONÇALVES, RAQUEL ; ALVES, LUISE . Need to move and maintain a good posture in elderly on surgery: quasi-experimental study. Revista de Pesquisa: Cuidado e Fundamental (Online), v. 6, p. 398-407, 2014.

14-FALEIRO, T. B.; HADID, M. B. ; SCHULZ, R. S. ; ANDRADE, M. L. ; SANTANA, M. I. ; ERMIDORF, A. K. V. . Análise do custo das internações de idosos, para tratamento de fraturas do fêmur, em hospital militar do Rio de Janeiro.. Revista Amazonense de Geriatria e Gerontologia, v. 01, p. 36-45, 2013

15-SCHULZ, R. S. ; SANTANA, R. F. ; FALEIRO, T. B. ; ALVES, L. F. A. ; GONCALVES, R. C. S. . INTERVENÇÕES DE ENFERMAGEM PARA AS NECESSIDADES DE COMER E BEBER EM IDOSOS CIRÚRGICOS. Revista de Enfermagem UFPE On Line, v. 7, p. 1182-1188, 2013.

16-SCHULZ, R. S. ; SANTANA, R. F. ; OLIVEIRA B.G.R. ; CARVALHO, MAGALI ; FALEIRO, T. B. . Monitoramento telefônico à distância na recuperação cirúrgica: revisão integrativa. Cuidarte. Enfermagem, v. 7, p. 107-112, 2013.

### **Capítulos de livros publicados**

1. DALTRO, G. C. ; FALEIRO, T. B. ; GUEDES, A. . Fratura da Extremidade Proximal do Fêmur. In: Gildásio Daltro. (Org.). Saúde do Idoso - Aparelho Locomotor- Condição Física e Envelhecimento. 1ed.Salvador: , 2016, v. 28, p. 245-250.

2. DALTRO, G. C. ; FALEIRO, T. B. ; GUEDES, A. . Fratura da Extremidade Distal do Rádio. In: Gildásio Daltro. (Org.). Saúde do Idoso- Aparelho Locomotor- Condição Física e Envelhecimento. 1ed.salvador: Renata, 2016, v. 29, p. 251-254.

3. DALTRO, G. C. ; FALEIRO, T. B. ; GUEDES, A. . Fratura Osteoporótica da Coluna Vertebral. In: Gildásio Daltro. (Org.). Saúde do Idoso- Aparelho Locomotor- Condição Física e Envelhecimento. 1ed.Salvador: , 2016, v. 30, p. 255-261.

## DEDICATÓRIA

Com carinho

À Deus,

À minha família,

E a todos que seguiram comigo no percurso desta longa estrada.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar ao Professor Doutor Gildásio Daltro por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa, ensinado sobre as inovações tecnológicas na Ortopedia, ter sido meu coorientador neste projeto e por ser uma referência e exemplo de profissional e pesquisador.

Ao meu orientador, Professor Antônio Carlos Guastaldi, por ter me orientado e permitido que este trabalho fosse realizado.

À meus pais e minhas irmãs por me amarem e estarem sempre unidos.

À minha esposa, Renata Schulz, por escolher dividir a vida comigo e ser minha companheira em todos os momentos.

Aos meus amigos Bruno Adelmo, Davi Veiga e Alexandre Meirelles pela parceria e ajuda mútua.

Ao Professor Doutor Vitor Fortuna pelo apoio e orientações para conclusão deste trabalho.

À prezada Wennia Limonti por toda ajuda, paciência e cooperação.

À equipe do Núcleo de Pós Graduação do Aparelho Locomotor da Universidade Federal da Bahia, especialmente a Thaise, por todo auxílio e dedicação a este projeto.

## RESUMO

O termo Doença Falciforme (DF) é utilizado para definir hemoglobinopatias nas quais pelo menos uma hemoglobina (Hb) anormal é a hemoglobina S (HbS). Essa alteração provoca distorção dos eritrócitos, fazendo-os tomar a forma de “foice” ou “meia-lua”. No Brasil, cerca de 700 a 1.000 pessoas portadoras de DF nascem anualmente e na Bahia uma em cada 650 crianças nascidas vivas apresentam a patologia. A DF cursa com complicações ósteo-articular em 80% dos casos e uma das mais frequentes e graves é a osteonecrose. Os métodos de tratamento atualmente disponíveis não são capazes de garantir bons resultados clínicos para este grupo de pacientes. Além disso, a evolução natural da doença em pacientes não tratados é de piora progressiva. Diante disso, traçou-se como objetivo avaliar o resultado clínico e radiológico do tratamento com implante autólogo de células mononucleares da medula óssea em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral secundária a Doença Falciforme. Foi realizado um estudo prospectivo, experimental, com avaliação antes e após o implante das células mononucleares na cabeça umeral; participaram deste estudo 6 pacientes adultos, portadores sintomáticos de necrose avascular. Os resultados do estudo demonstraram que os resultados do implante autólogo de células mononucleares foram excelentes, promovendo melhora da mobilidade, dor e função articular. A amplitude de todos os movimentos avaliados apresentou melhora em relação ao pré operatório com ganho estatisticamente significativo nos movimentos de flexão, extensão e rotação externa. Além disso, o Shoulder Pain and Disability Index (SPADI) apresentou melhora estatisticamente significativa nos dois domínios avaliados (dor e incapacidade) em todos os pacientes. Outro aspecto importante foi a melhora observada nos exames de ressonância realizados 01 ano após a cirurgia quando comparados com os realizados no pré operatório. Conclui-se pelo estudo que a terapia com células mononucleares autólogas é segura e eficaz para promover melhora clínica e nos exames de ressonância.

**Palavras chaves:** osteonecrose; ombro; anemia falciforme; terapia baseada em transplante de células e tecidos

## ABSTRACT

The term sickle cell disease (SCD) is used to define hemoglobinopathies in which the at least one hemoglobin (Hb) is abnormal hemoglobin S (HbS). This relationship causes distortion of the erythrocytes, making it take a form of "sickle" or "half-moon". In Brazil, about 700 to 1,000 people with SCD are born annually and in Bahia one out of every 650 communities born alive have a pathology. SCD is complicated with osteoarticular disease in 80% of cases and one of the most frequent is osteonecrosis. The treatment available are not able to promote good clinical results for this group of patients. Moreover, the natural evolution of the disease is characterized by progressive worsening. Therefore, the objective is to evaluate the clinical and radiological results of the treatment with autologous bone marrow mononuclear cell implantation in patients with osteonecrosis of the humeral head secondary to Sickle Cell Disease. We developed a prospective, experimental study with evaluation and post-implantation of mononuclear cells in the humeral head; 6 adult patients, symptomatic carriers of avascular necrosis, participated in the study. The results of the study demonstrated that the results of autologous mononuclear cell implantation were excellent, promoting improved mobility, pain and functional function. The breadth of all efforts is improved in terms of performance with the statistically significant gain in terms of flexibility, stretch and external velocity. In addition, the Index of Pain and Disability in the Shoulder (SPADI) was updated in all patients. Another important aspect was an improvement in the resonance tests performed 1 year after surgery when compared with those performed in the preoperative period. It is concluded by the study that mononuclear cells are safe and effective in improving their clinical capacity and in the resonance examinations.

**Keywords:** osteonecrosis; shoulder; sickle cell anemia; therapy based on cell and tissue transplantation

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Classificação de Cruess

**Figura 2 -** Aspiração da medula óssea na crista íliaca.

**Figura 3-** Separador de Células (Sepax, Biosafe, Suíça)

**Figura 4 -** Seringa contendo concentrado de células mononucleares autólogas

**Figura 5 -** Posicionamento do paciente e intensificador de imagens

**Figura 6-** injeção de CMMO na cabeça umeral

**Figura 7-** Uso intraoperatório do intensificador de imagens

**Figura 8-** Ressonância pré operatória/ ombro 1

**Figura 9-** Ressonância pós operatória/ ombro 1

**Figura 10-** Ressonância pré operatória/ ombro 2

**Figura 11-** Ressonância pós operatória/ ombro 2

**Figura 12-** Ressonância pré operatória/ ombro 3

**Figura 13-** Ressonância pós operatória/ ombro 3

**Figura 14-** Ressonância pré operatória/ ombro 4

**Figura 15-** Ressonância pós operatória/ ombro 4

**Figura 16-** Ressonância pré operatória/ ombro 5

**Figura 17-** Ressonância pré operatória/ ombro 5

**Figura 18-** Ressonância pré operatória/ ombro 6

**Figura 19-** Ressonância pós operatória/ ombro 6

**Figura 20-** Ressonância pré operatória/ ombro 7

**Figura 21-** Ressonância pós operatória/ ombro 7

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1-** Idade média e distribuição por sexo e genótipo

**Tabela 2-** Lateralidade e distribuição pela classificação de Cruess

**Tabela 3-** Médias da amplitude de movimento no pré e pós operatório

**Tabela 4-** Resultados do Shoulder Pain and Disability Index

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1-** Resultados pré e pós operatórios do movimento de flexão do ombro

**Gráfico 2-** Resultados pré e pós operatórios do movimento de extensão do ombro

**Gráfico 3-** Resultados pré e pós operatórios do movimento de rotação externa do ombro

**Gráfico 4-** Resultados pré e pós operatórios do movimento de rotação interna do ombro

**Gráfico 5-** Resultados pré e pós operatórios da Escala de Dor

**Gráfico 6-** Resultados pré e pós operatórios da Escala de Incapacidade

**Gráfico 7-** Resultados pré e pós operatórios do valor total do SPADI

## LISTA DE ABREVIATURAS

DF: Doença Falciforme

Hb: Hemoglobina

HbS: Hemoglobina S

HbC: Hemoglobina C

HbF: Hemoglobina Fetal

SPADI: Shoulder Pain and Disability Index

SCD: Sickle Cell Disease

SUS: Sistema Único de Saúde

AF: Anemia Falciforme

HbSS: forma homozigótica de Doença Falciforme

HbSC: forma heterozigótica de Doença Falciforme

desoxiHbS: hemoglobina S não-oxigenada

ADN: ácido desoxirribonucleico

CMMO: Células Mononucleares da Medula Óssea

UFBA: Universidade Federal da Bahia

HUPES: Hospital Universitário Professor Edgard Santos

mL: Mililitros

CFU-F: Unidades Formadoras de Colônias Fibroblásticas

SIPAR: Sistema Integrado de Protocolo e Arquivo

MS: Ministério da Saúde

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

Pré op: pré operatório

Pós op: pós operatório

ISHAGE: International Society of Hematotherapy and Graft Engineering

ASES: American Shoulder and Elbow Surgeons

CA: Califórnia

NJ: Nova Jersey

EUA: Estados Unidos da América

TCTH: transplante de células-tronco hematopoiéticas

CTHs: células-tronco hematopoiéticas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
1.1	Doença falciforme	18
1.1.1	Epidemiologia	18
1.1.2	Aspectos genéticos da Doença Falciforme	18
1.1.3	Aspectos moleculares da Doença Falciforme	19
1.1.4	Manifestações Clínicas	20
1.1.5	Diagnóstico	22
1.2	Anatomia da cabeça umeral	22
1.2.1	Osteologia do ombro	22
1.2.2	Anatomia vascular da cabeça umeral	23
1.2.3	Amplitude de movimento do ombro	23
1.3	Osteonecrose da cabeça umeral	23
1.3.1	Fisiopatologia	24
1.3.2	Classificação da osteonecrose da cabeça umeral	24
1.4	Terapia baseada em células tronco autólogas	25
<b>2</b>	<b>Justificativa</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>Objetivo</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>Metodologia</b>	<b>27</b>
4.1	Modelo de estudo	27
4.2	Grupo de pacientes	27
4.2.1	Critérios de inclusão	27
4.2.2	Critérios de exclusão	27
4.3	Métodos	28
4.3.1	Obtenção e processamento do aspirado celular	28



4.3.2	Procedimento cirúrgico para injeção da suspensão celular na cabeça umeral	30
4.4	Caracterização da suspensão celular	31
4.4.1	Viabilidade celular	31
4.4.2	Fenotipagem	32
4.5	Acompanhamento e avaliação clínica	32
4.6	Análise estatística	32
5	Comitê de ética	33
6	Resultados	33
7	Discussão	42
9	Conclusão	49
9	Referências	50
10	Anexos	54
10.1	Anexo 1 (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido)	54
10.2	Anexo 2 (Escala Shoulder Pain and Disability -SPADI)	58

## 1-INTRODUÇÃO

A Doença Falciforme (DF) apresenta caráter genético e foi descrita pela primeira vez em 1910 por Herrick(GÓMEZ-CHIARI; PUIGBERT; ARAMBURU, 2003; IÑÍGUEZ et al., 2003). A primeira descrição da transmissão genética da DF coube ao Dr. Jessé Accioly, em 1946, quando cursava o 5º ano de Medicina na Faculdade de Medicina da Bahia, publicado no ano seguinte nos Arquivos da Faculdade de Medicina da Bahia, também conhecida de Tertúlias Acadêmicas(ACCIOLY, 1947). É frequente, mas não exclusiva, em indivíduos de origem africana, originada por uma mutação genética que resulta na substituição de um ácido glutâmico pela valina na posição 6 da extremidade N-terminal na cadeia  $\beta$  da globina, dando origem à hemoglobina S, localizado no cromossomo 11. Os eritrócitos cujo conteúdo predominante é a hemoglobina S assumem, em condições de hipóxia, forma semelhante à de uma foice daí o nome falciforme, decorrente da polimerização da hemoglobina S(COSTA, 2001; SERJEANT, 1999). Os glóbulos vermelhos em forma de foice não circulam adequadamente na microcirculação, resultando tanto em obstrução do fluxo sanguíneo capilar como em sua própria destruição precoce. Este mecanismo fisiopatológico acarreta graves manifestações clínicas, com maior frequência após os 3 meses de idade(SERJEANT, 1999).

A Anemia Falciforme (AF) manifesta-se em indivíduos homozigóticos para a hemoglobina S e em combinação com outras hemoglobinas anormais pode resultar em doença falciforme com diversos graus de gravidade: associado a hemoglobina C (SC), a  $\beta^+$  talassemia, ou  $\alpha$  talassemia, em ordem decrescente de frequência(SERJEANT, 1999).

No Brasil, devido à grande presença de afrodescendentes, que são uma das bases da população do país, a DF constitui um grupo de doenças que provoca agravos relevantes. Por essa razão, foi incluída nas ações da Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da População Negra, do Ministério da Saúde(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007) e está no regulamento do Sistema Único de Saúde (SUS), nos termos da Portaria nº 2.048, de 3 de setembro de 2009, artigos 187 e 188. Eles definem as Diretrizes da Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme(BRASIL, 2005). A incidência de portadores de Doença Falciforme na Bahia é de 1:650 nascidos vivos(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Nos portadores da DF, frequentemente há acometimento ósseo associado, manifestado clinicamente sob as formas de infarto, infecção e necrose avascular. A osteonecrose é uma complicação frequente(DALTRO et al., 2018a; DAVID et al., 1993), em estudo publicado em 2018, não encontraram diferenças significativas na incidência de osteonecrose entre pacientes homozigotos (SS) e heterozigotos (SC) em indivíduos na Bahia. Dentre os segmentos ósseos afetados pela osteonecrose, a cabeça femoral aparece em primeiro lugar, seguida da cabeça umeral. No Zaire, África, Hernigou et al. encontraram prevalência de 30% de osteonecrose em indivíduos com DF; e 1,6% dos pacientes apresentavam osteonecrose da epífise umeral proximal(HERNIGOU et al., 1989).

## **1.1 Doença Falciforme**

### **1.1.1. Epidemiologia**

Estima-se que aproximadamente 7% da população mundial apresente transtornos de hemoglobina, incluindo não só a Doença Falciforme (DF), mas também as talassemias. O genótipo heterozigótico acomete afrodescendentes no percentual de 10% nos EUA, 6% no Sul e Sudeste do Brasil e aproximadamente 15,7% no Estado da Bahia(WAMBIER; WAMBIER; PAULA, 2007).

No Brasil, cerca de 700 a 1.000 crianças nascem por ano com diagnóstico de Doença Falciforme. Na Bahia, uma em cada 650 crianças que nascem, é portadora de doença falciforme e uma em cada 17 apresenta traço falciforme(SANTOS et al., 2010). Em Minas Gerais, foi relatada a incidência de um caso de Anemia Falciforme (AF), ou seja, indivíduos homozigotos (HbSS) para cada 2.800 nascimentos e no Rio de Janeiro, verificou-se a existência de um caso para cada 1.196 nascimentos(WAMBIER; WAMBIER; PAULA, 2007).

### **1.1.2. Aspectos genéticos da Doença Falciforme**

O termo DF é utilizado para definir hemoglobinopatias em que a alteração ocorre na hemoglobina S (HbS). Essa alteração provoca distorção dos eritrócitos, fazendo-os tomar a

forma de “foice” ou “meia-lua”(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). De acordo com o tipo de alteração presente na hemoglobina (Hb), pode-se classificar essa hemoglobinopatia em formas clínicas distintas: forma homozigótica (HbSS), que é Anemia Falciforme (AF), e as formas heterozigóticas, representadas pelas associações de HbS com outras variantes de hemoglobinas, tais como: hemoglobina C (HbC), hemoglobina D, beta-talassemia, entre outros, gerando combinações que também são sintomáticas, chamadas, respectivamente, hemoglobinopatia SC, hemoglobinopatia SD e S/beta-talassemia. Atualmente existem mais de 10 tipos diferentes de formas mutantes de eritrócitos que resultam em DF(EMBURY; VICHINSKY, 2000).

O padrão genotípico homozigoto, que corresponde a AF (HbSS), representa cerca de 70% dos casos de DF, em geral, resultante da herança de um gene anormal do pai e um da mãe, correspondendo a forma mais grave das síndromes falciformes. O segundo padrão mais prevalente é a doença da hemoglobina SC (HbSC), cuja deformação é causada por duas mutações nos alelos do ácido desoxirribonucleico (ADN) de forma isolada formando duas cadeias  $\beta$ -globinas alteradas (uma  $\beta_s$  e outra  $\beta_c$ ), que irá promover uma mudança na estrutura da Hb. Por fim, a terceira mais prevalente é a beta-talassemia. Nesse caso a mutação gera uma ausência ( $\beta^0$ -talassemia) ou redução ( $\beta^+$ -talassemia) das cadeias  $\beta$ -globina(NAGEL; FABRY; STEINBERG, 2003).

### 1.1.3 Aspectos moleculares da Doença Falciforme

Do ponto de vista molecular ocorre uma substituição pontual de uma base nitrogenada, timina por adenina ( $GAT \rightarrow GTT$ ), no 6º códon do éxon 1 no ácido desoxirribonucleico (ADN) do cromossomo 11, ocasionando o surgimento de uma hemoglobina (Hb) patológica HbS. A troca de bases nitrogenadas no ADN, ao invés de codificar a produção do aminoácido ácido glutâmico, irá determinar a produção do aminoácido valina, que entrará na posição 6 da sequência de aminoácidos que compõem a cadeia  $\beta$  da Hb. Dessa forma, a Hb que normalmente é formada por duas cadeias  $\alpha$  e duas  $\beta$  (hemoglobina AA ou HbA –  $\alpha_2\beta_2$ ) passa a ser formada por duas cadeias  $\alpha$  e duas  $\beta_s$ , (hemoglobina SS ou HbSS– $\alpha_2\beta_s_2$ )(EMBURY; VICHINSKY, 2000). Isso promove uma modificação físico-química na molécula de Hb, devido à perda de duas cargas elétricas por molécula de Hb e, sendo assim, apresentando diferente estabilidade e solubilidade com forte

tendência a formação de polímeros quando na sua forma desoxigenada(NETO; PITOMBEIRA, 2003).

A presença de outras Hbs dentro da célula influencia a falcização porque exerce um efeito de diluição, diminuindo a oportunidade de contato entre as moléculas de desoxiHbS. A influência sobre a polimerização da HbS varia com o tipo de hemoglobina não-S que está presente dentro da célula. A Hb que menos participa do polímero é a hemoglobina fetal (HF). Quanto maior é a porcentagem de HF, menor é a alteração da HbS. A presença de taxas mais elevadas até o terceiro mês faz com que a doença se manifeste a partir deste período da vida. Clinicamente, níveis elevados de HF associam-se à menor gravidade e confere melhor prognóstico à doença(COSTA, 2001).

A formação de polímero surge pelo contato, de natureza hidrofóbica, do aminoácido valina com o receptor fenilalanina e leucina na molécula adjacente HbS quando no estado de baixa tensão de oxigênio. Esse processo leva formação de fibras desoxiemoglobinas enoveladas, num fenômeno chamado de nucleação, seguida por um mecanismo de transformação da clássica forma do eritrócito em uma nova estrutura celular no formato de foice. E uma consequência desse mecanismo é a desidratação celular devido às perdas de íons potássio e de água. Outra alteração importante é a perda do seu poder deformatório, associado à perda da elasticidade da célula pela concentração de HbS intracelular, resultando no aumento da viscosidade no citosol e uma maior adesão do eritrócito falcizado ao endotélio, favorecendo assim, a formação de trombos na microcirculação e na macrocirculação e conseqüentemente dos fenômenos vasoclusivos(NETO; PITOMBEIRA, 2003).

#### **1.1.4. Manifestações Clínicas**

As manifestações da Doença Falciforme variam acentuadamente entre os genótipos da doença. Mesmo no genótipo mais grave é possível detectar casualmente pacientes assintomáticos, enquanto outros sofrem incapacitação em consequência das complicações da doença. A maioria dos sistemas orgânicos está sujeita ao processo de vaso-oclusão, resultando na falência multissistêmica característica, tanto aguda quanto crônica(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012; PLATH; ROSENSTOCK; ESPELEND, 1984).

O quadro clínico da DF ocorre devido a dois fenômenos principais, que são: a oclusão vascular pelos glóbulos vermelhos que gera o infarto nos diversos tecidos e órgãos; e o fenômeno da hemólise crônica e seus mecanismos compensatórios. Esses fenômenos são mais marcantes em portadores de Anemia Falciforme (ou seja, HbSS) sendo que, o conteúdo de Hb e eritrócitos alterados, é maior. O mecanismo de vaso-oclusão provavelmente está relacionado ao processo inflamatório que surge a partir da hipóxia tecidual. Dessa maneira são ocasionados danos sistêmicos por provocar uma alternância entre isquemia e reperfusão tissular(MANWANI; FRENETTE, 2013).

Em pacientes com DF, as apresentações clínicas se expressam, de maneira precoce. Aproximadamente 96% dos portadores de DF desenvolverão sintomas específicos da doença até os 8 anos de idade. A dor representa o sintoma mais frequente a partir dos 2 anos e está relacionada aos eventos vaso-oclusivos e acomete mais de 25% dos pacientes, principalmente nos casos de homozigotos (HbSS), onde a penetrância da doença é maior(BAINBRIDGE et al., 1985; BAUM et al., 1987). As crises álgicas ocorrem inesperadamente, em qualquer região do corpo, muitas vezes sem sinais e sintomas clássicos, podendo ser desencadeada por eventos como infecções, desidratação, acidose metabólica, hipoxemia, exposição a estresse físico e quadro emocional(MANWANI; FRENETTE, 2013).

Diferente de outras anemias hemolíticas, pacientes com DF não costumam apresentar esplenomegalia, pois repetidos episódios de vaso-oclusão determinam fibrose e atrofia do baço. Este fenômeno, denominado de auto-esplenectomia, ocorre geralmente até os 5 anos de idade. Entretanto, mesmo antes da auto-esplenectomia, a capacidade fagocítica mediada por opsoninas e a produção de anticorpos são afetadas em consequência da persistente agressão esplênica, levando à asplenia funcional, que se torna permanente em torno de sexto ao oitavo ano de vida(ANVISA, 2002). Devido a destruição do baço ocorre suscetibilidade aumentada a infecções grave (septicemias). Em decorrência desse processo também haverá uma maior susceptibilidade a infecções por bactérias encapsuladas tais como *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella*, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Escherichia coli* e *Klebsiella*, sendo as infecções por estes microrganismos a principal causa de morte em crianças menores de 5 anos(ANVISA, 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; WAMBIER; WAMBIER; PAULA, 2007).

Os pacientes portadores da DF apresentam comprometimento ósteo-articular em 80% dos casos sob a forma de osteomielite, doença articular sinovial, hemocromatose ou osteonecrose. Dentre todas, uma das mais frequentes e graves é a osteonecrose. Essa complicação comum em jovens, é mais comumente observada na cabeça femoral e caso não realizado tratamento adequado, pode provocar deformidade, com conseqüente incongruência e degeneração articular. Nos casos de osteoartrite grave há indicação de substituição protética da articulação. Outras, manifestações clínicas da DF incluem retardo do crescimento e maturação sexual, acidente vascular cerebral, comprometimento renal e hepático, retinopatia, úlceras de membros inferiores, acidente vascular cerebral e síndrome torácica aguda(DALTRO et al., 2010).

### **1.1.5. Diagnóstico**

O diagnóstico precoce está estreitamente relacionado ao aconselhamento genético, pois do casamento ao acaso de pacientes heterozigotos, podem nascer pacientes portadores de anemias hemolíticas crônicas, muitas vezes fatais na infância. O diagnóstico na DF é feito por meio do diagnóstico laboratorial, que deve ser feito no período neonatal, no ato do nascimento pelo teste do pezinho(ANVISA, 2002).

A detecção das diversas formas de DF requer diagnóstico preciso, baseado principalmente em técnicas eletroforéticas, hemograma e dosagem de HbF. Nos casos de associação da HbS como variantes de Hbs, como por exemplo, a HbC, a associação de técnicas eletroforéticas alcalinas e ácida é decisiva para o correto diagnóstico(IÑÍGUEZ et al., 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

## **1.2- Anatomia do ombro**

### **1.2.1 Osteologia do ombro**

O ombro é o segmento com maior mobilidade do corpo humano. É formado por 04 ossos (úmero, escápula, esterno e clavícula), três articulações (acrômio clavicular, glenoumeral e esterno clavicular) e 01 superfície de deslizamento (escapulo torácica). A articulação glenoumeral é formada pela cavidade glenóide da escápula com a cabeça umeral sendo classificada como sinovial esferóide. A cavidade glenóide apresenta uma

borda cartilaginosa (lábio da glenóide) que aumenta sua profundidade e permite cobertura de apenas um terço da cabeça do úmero. Assim a estabilidade da articulação do ombro depende do tônus muscular do grupo manguito rotador (supraespinhal, infraespinhal, redondo menor e subescapular)(MOORE; DALLEY, 2006).

### **1.2.2- Anatomia vascular da cabeça umeral**

Estudos sobre a vascularização da epífise umeral proximal demonstram que o seu principal suprimento provém das artérias circunflexas umerais anterior e posterior, ramos da artéria axilar; também de acordo com esses estudos, a artéria circunflexa anterior contribui com a irrigação da maior parte da cabeça do úmero e a artéria circunflexa posterior apresenta área de irrigação variável, geralmente incluindo a porção póstero-inferior da epífise(DALTRO et al., 2010)

### **1.2.3- Amplitude de movimento do ombro**

Dentre os graus de liberdade da articulação do ombro, a flexão e a extensão ocorrem no plano sagital, descrevendo juntos um total de 225° de amplitude articular em torno de um eixo coronal. A flexão corresponde à maior parte dessa amplitude, representando 180° de movimento a partir da posição anatômica. Os restantes 45° ocorrem com o movimento de extensão do membro também desde a posição anatômica. O ombro apresenta ainda os movimento de rotação interna e externa cada um com amplitude de 90 graus(MARQUES, 2003)

## **1.3-Osteonecrose da cabeça umeral**

Dentre os segmentos ósseos afetados pela osteonecrose em indivíduos com Doença Falciforme, a cabeça femoral aparece em primeiro lugar, seguida da cabeça umeral. Lee observou prevalência de 31,5% de necroses ósseas totais, dentre elas, 68,5% femorais, 21,7% umerais e 9,8% acometendo as demais articulações(LEE; GOLDING; SERJEANT, 1981). David et al., na região do Caribe, reportaram 28,3% de casos com necrose da cabeça umeral(DAVID et al., 1993) .



### 1.3.1-Fisiopatologia

A fisiopatologia da osteonecrose na doença falciforme ainda é pouco conhecida. Presume-se que o evento inicial seja a obstrução dos sinusóides medulares pelas células falcizadas, com conseqüente necrose da medula óssea e das células que formam o tecido ósseo. Esta necrose provocaria um processo de reparação óssea que apesar de melhorar a lesão, principalmente em indivíduos jovens, produziria também um aumento da pressão intramedular, o que levaria à reabsorção óssea e colapso da estrutura (BAUM et al., 1987; MANWANI; FRENETTE, 2013).

### 1.3.2-Classificação da osteonecrose da cabeça umeral

O sistema de Cruess (figura 1) é o mais utilizado na classificação da osteonecrose e foi idealizado a partir de adaptação da classificação de Ficat&Arlet, originalmente desenvolvido para classificar a necrose da cabeça femoral, utilizando como parâmetros as imagens de radiografias e ressonância do ombro, classificando-as em cinco estágios evolutivos (JANG et al., 2014):

Estágio I – fase inicial; representado pela ausência de alterações radiográficas. Apesar da aparente normalidade nas radiografias, já estão presentes alterações histopatológicas que podem ser confirmadas por biópsia. A ressonância nuclear magnética permite o diagnóstico precoce.

Estágio II – nessa fase ocorre esclerose óssea, acometendo principalmente a porção superior da cabeça umeral. A esclerose pode ser focal ou difusa, resultando em fratura subcondral sem colapso articular;

Estágio III – Presença do “sinal do crescente”, que corresponde ao colapso do osso subcondral. A esfericidade da cabeça umeral está mantida. Essas alterações são melhor observadas nas radiografias do ombro na posição de rotação externa;

Estágio IV – Caracterizado por avançado colapso da cabeça umeral, alterações articulares degenerativas e eventual presença de corpos livres articulares. A glenóide ainda se encontra preservada; e

Estágio V – Fase final da osteonecrose. Cursa com alterações degenerativas da cabeça umeral e da glenóide, associadas à incongruência articular. Há deformidade na cabeça umeral, perda do espaço articular, presença de osteófitos e cistos subcondrais.

**Figura 1:** Classificação de Cruess



#### 1.4. Terapia baseada em células tronco autólogas

A medula óssea aspirada da crista ilíaca dos indivíduos com Doença Falciforme contém células progenitoras mesenquimais, com potencial osteogênico e condrogênico, além de células progenitoras endoteliais, capazes de contribuir com vasculogênese e angiogênese, providenciando o reparo vascular. Estes atributos foram explorados por vários grupos que desenvolveram estudos experimentais e clínicos empregando o implante autólogo de células mononucleares da medula óssea (CMMO) na cicatrização, recuperação da citoarquitetura óssea e regeneração do fluxo sanguíneo local de tecidos lesionados e isquêmicos(DALTRO et al., 2008).

Estudos clínicos prospectivos recentes do tratamento da osteonecrose femoral pelo implante autólogo de CMMO mostraram resultados eficazes e seguros. Dentre as diversas etiologias que contribuem para esta patologia, os pacientes falcêmicos apresentam os melhores prognósticos para a terapia, com índice menor que 5% de insucesso recorrendo à artroplastia de quadril após 8 anos(DALTRO et al., 2008; ZHAO et al., 2012).

## **2-JUSTIFICATIVA**

O ombro dos pacientes com Doença Falciforme que apresentam osteonecrose sintomática tem alta taxa de progressão para colapso da cabeça umeral quando mantidos sem tratamento(PLATH; ROSENSTOCK; ESPELEND, 1984).

O tratamento mais confiável e durável para osteonecrose da cabeça do úmero permanece sendo a artroplastia. As indicações são semelhantes àsquelas usadas para outros diagnósticos, ou seja, dor significativa e disfunção refratária ao tratamento conservador. Como as radiografias muitas vezes se correlacionam mal com os sintomas a indicação cirúrgica pode ser feita em estágios iniciais naqueles pacientes com sintomas graves e sinais de mau prognóstico(DAVID et al., 1993; GRUSON; KWON, 2009).

As cirurgias expõe os pacientes a muitos dos fatores que são conhecidos por precipitar crises de falcização, dessa forma, as pessoas com anemia falciforme que se submetem à cirurgia maiores, com a artroplastia, requerem cuidados clínicos meticulosos para prevenir complicações relacionadas à anemia falciforme no perioperatório. Mesmo com cuidados meticulosos, aproximadamente 25% a 30% dos pacientes terão uma complicação pós-operatória. Assim, os pacientes com Doença Falciforme enfrentam um risco cirúrgico muito maior do que a população em geral(BUCK; DAVIES, 2005):

Assim, é fundamental investigar medidas de tratamento menos invasivas que possam prevenir o colapso da cabeça umeral, dor e limitação funcional e consequente necessidade de substituição protética.

## **3-OBJETIVO**

Avaliar o resultado clínico e radiológico do tratamento com implante autólogo de células mononucleares da medula óssea em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral secundária a Doença Falciforme.

## **4-METODOLOGIA**

### **4.1-Modelo de Estudo**

Trata-se de um estudo experimental.

### **4.2-Grupo de pacientes**

Participaram deste estudo seis pacientes adultos com diagnóstico de doença falciforme, de ambos os sexos, portadores sintomáticos de necrose avascular da cabeça umeral. Os pacientes foram selecionados no ambulatório Magalhães Neto do Complexo Hospitalar Professor Edgard Santos e as cirurgias foram realizadas no Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES).

Para estabelecer o diagnóstico de necrose asséptica da cabeça umeral os pacientes que participaram do estudo fizeram radiografias simples (anteroposterior verdadeiro, axilar e perfil da escápula) e exames de ressonância magnética do ombro.

Todos os pacientes, antes de ingressarem no estudo, foram esclarecidos sobre os benefícios e possíveis complicações do procedimento e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

#### **4.2.1-Critérios de inclusão**

Foram incluídos neste estudo pacientes portadores de necrose asséptica do ombro que preencheram os critérios a seguir:

- 1-pacientes adultos portadores de doença falciforme e osteonecrose da cabeça umeral sem colapso, ou seja, nos estágios I, II e III pela classificação de Cruess;
- 2-dor e perda ou limitação da função do membro.

#### **4.2.2-Critérios de Exclusão**

Foram estabelecidos os seguintes critérios de exclusão :

- 1-osteonecrose nos estágios IV e V de Cruess

2-infecção no local da lesão óssea

3-portadores de doença neoplásica maligna.

#### 4.3-Métodos

##### 4.3.1-Obtenção e processamento do aspirado celular

A punção e aspiração da medula óssea na crista ilíaca isolateral foi realizada sob anestesia em centro cirúrgico.

Após assepsia e antissepsia local o paciente foi posicionado em decúbito dorsal. Uma pequena incisão sobre a pele foi realizada para introdução de agulha do tipo Jamshidi (figura 2).

**Figura 2:** Aspiração da medula óssea na crista ilíaca.



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

O aspirado de medula óssea foi colhido em seringas de 20mL até totalizar um volume final de 120mL. As amostras foram coletadas em uma única bolsa plástica contendo meio de cultura e solução anticoagulante (ácido cítrico, citrato de sódio e dextrose). Após filtração o aspirado foi concentrado em um separador de células (SEPAX, Biosafe, Suíça, Figura 3), constituído por uma centrífuga e um dispositivo de dupla câmara descartável que forneceu aproximadamente 40 mL (volume fixo) de concentrado

contendo células mononucleares de medula óssea após sessenta minutos de centrifugação múltipla, de acordo com a recomendações do fabricante.

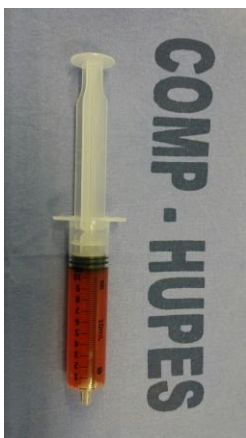
**Figura 3:** Separador de Células (Sepax, Biosafe, Suíça)



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Após a concentração das células mieloides, realizada por meio do separador de células, utilizou-se para a aspiração uma seringa estéril para posteriormente ser injetada na lesão óssea (figura 4).

**Figura 4:** Seringa contendo concentrado de células mononucleares autólogas



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

#### 4.3.2- Procedimento cirúrgico para injeção da suspensão celular na cabeça umeral

Imediatamente após a finalização do procedimento de punção e aspiração da medula óssea e ainda sob efeito de anestesia o paciente foi colocado com o dorso em semiflexão de 45 graus, com o intensificador de imagens no lado contrário ao membro operado (figura 5).

**Figura 5:** Posicionamento do paciente e intensificador de imagens



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Após posicionamento adequado do paciente foi realizada introdução de uma agulha de uma trefina com diâmetro interno de 1mm introduzida por via percutânea na cabeça umeral através de acesso lateral (figura 6).

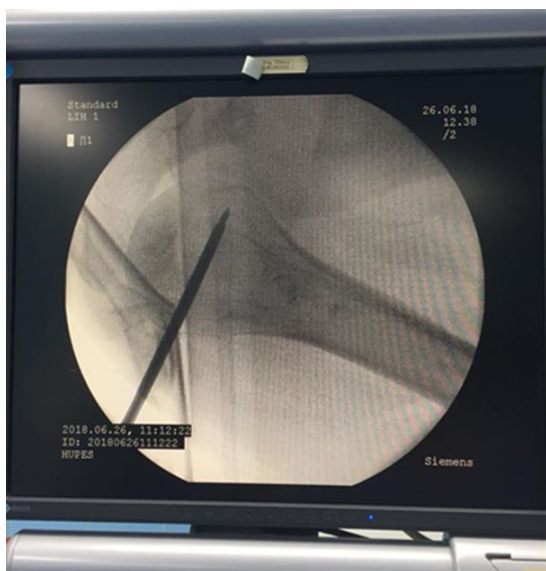
**Figura 6:** injeção de CMMO na cabeça umeral



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

A injeção da suspensão celular foi guiada pelo intensificador de imagens e pelas imagens de ressonância pré-operatórias e realizada no centro da área de necrose conforme a figura 7.

**Figura 7:** Uso intraoperatório do intensificador de imagens



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

#### **4.4- Caracterização da suspensão celular**

##### **4.4.1- Viabilidade celular**

Foi verificada uma pequena alíquota pela técnica de exclusão ao Azul de Trypan, antes da injeção e expressa em percentual do total de células.

##### **4.4.2- Fenotipagem**

A fenotipagem foi realizada por citometria de fluxo para verificar a composição das células que foram injetadas. Os antígenos de membrana celular analisados foram aqueles propostos pelo protocolo da ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering): anti-CD34-PE (Bioscience, NJ, EUA), anti-CD45-FITC (Becton Dickinson, CA, EUA) e suas IgGs compatíveis com o isotipo. Para análise,  $5 \times 10^5$  eventos foram adquiridos e pontuados com um analisador FACS Calibur (Becton Dickinson).



#### **4.5-Acompanhamento e avaliação clínica**

O acompanhamento dos pacientes foi realizado no ambulatório Magalhães Neto/UFBA. Foi recomendado a utilização de tipoia para imobilização do membro superior operado por dois dias e após esse período foi estimulada mobilização ativa do ombro.

Após a alta hospitalar os pacientes foram submetidos a revisões periódicas. A primeira consulta na semana após a cirurgia, a segunda após duas semanas de pós-operatório quando foram retirados os pontos cirúrgicos. Após retirada dos pontos de sutura os pacientes foram encaminhados para reabilitação fisioterapêutica. As consultas subsequentes ocorreram aos três, seis e doze meses de pós-operatório. A avaliação clínica foi feita para a avaliação de amplitude de movimento do ombro (flexão e extensão do ombro e rotação externa e interna em abdução neutra), utilizando um goniômetro seguindo as recomendações de Marques(MARQUES, 2003) e a escala Shoulder Pain and Disability Index (anexo 2) antes da cirurgia e após 01 ano de seguimento.

As ressonâncias de controle foram realizadas após 01 ano de pós-operatório para avaliação da osteonecrose e comparação com o status pré cirúrgico.

#### **4.6-Análise estatística**

Para a análise descritiva, as variáveis quantitativas foram representadas por suas médias e desvios-padrão. Uma definição de normalidade foi feita por meio da análise gráfica e teste de ShapiroWilk. As variáveis categóricas foram representadas por frequências e porcentagens. Comparações bivariadas entre grupos foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney U Pareado para variáveis de distribuição não-normal, por meio desse teste é possível definir se a distribuição da população é idêntica sem assumir que há uma distribuição normal.

#### **5-COMITÊ DE ÉTICA**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Maternidade Climério da Silveira e faz parte do Projeto de pesquisa “Tratamento de Osteonecrose em

pacientes falcêmicos com transplante autólogo de células mononucleares” aprovado sob o número 11738, SIPAR/MS: 25000.039812/2005–99).

## 6- RESULTADOS

Foram incluídos no estudo seis pacientes. Houve apenas um caso de bilateralidade, tendo sido operados sete ombros. Cinco pacientes selecionados são do sexo feminino e um do sexo masculino. As idades variaram entre 19 e 47 anos. Três pacientes selecionados foram homozigotos (HbSS) e 03 heterozigotos (HbSC). A tabela 1 mostra a idade média e distribuição por sexo e genótipo.

**Tabela 1:** Idade média e distribuição por sexo e genótipo

<b>Pacientes</b>		<b>(n = 6)</b>
<b>Idade</b>		35.8±10.8
<b>Sexo</b>		
	<b>Feminino</b>	5 (83.3%)
	<b>Masculino</b>	1 (16.7%)
<b>Genótipo</b>		
	<b>HbSS</b>	3 (50%)
	<b>HbSC</b>	3 (50%)

A avaliação pré-operatória pela classificação de Cruess mostrou que seis ombros foram classificados em estágio II e um ombro em estágio III. Em relação a lateralidade foram incluídos quatro ombros direitos e três esquerdos. A tabela 2 mostra a distribuição por lado e segundo a classificação de Cruess.

**Tabela 2:** Lateralidade e distribuição pela classificação de Cruess

<b>Ombros</b>		<b>(n =7)</b>
<b>Classificação de Cruess</b>		
<b>III</b>		1 (14.3)
<b>II</b>		6(85.7)
<b>Lateralidade</b>		
<b>Direita</b>		4 (57.0)
<b>Esquerda</b>		3 (43.0)

A quantidade total de CMMO variou de 12.6 a  $82.3 \times 10^6$  células / ml, tendo sido encontrado um valor médio de  $50.7 \times 10^6$  células. A análise celular revelou que a

viabilidade das células infundidas, determinada pela exclusão do azul de tripano, foi superior de 91.8%. Além disso, 79.68% do total foram CD45+ e 0.52% de células CD45<sup>low</sup>CD34<sup>+</sup>, que são precursoras de células hematopoiéticas. e foram injetadas na área de necrose.

A comparação clínica da amplitude de movimentos pré-operatória e pós-operatória mostrou melhora clínica em todos os parâmetros avaliados (flexão, extensão, rotação interna e rotação externa). A análise estatística mostrou haver melhora estatisticamente significativa (nível de significância de 0.05) em todas amplitudes de movimento com exceção da rotação interna.

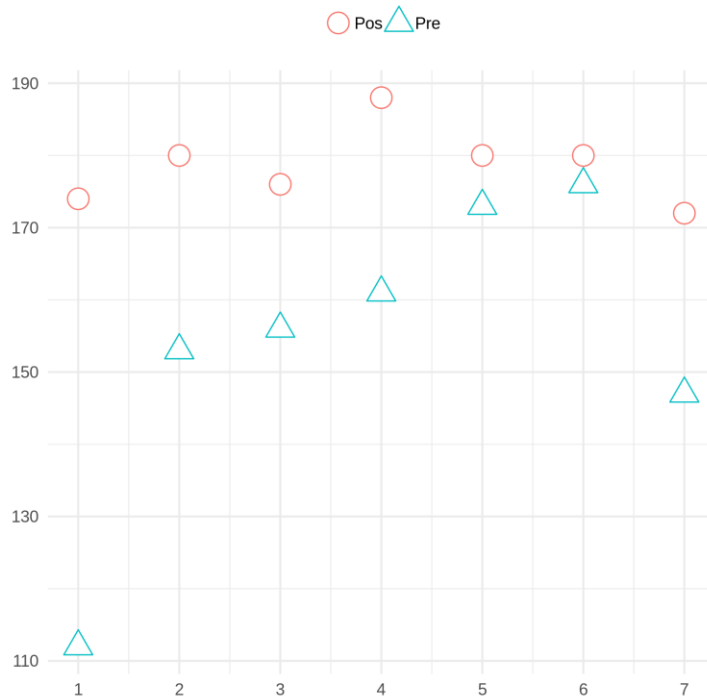
A tabela 3 mostra as médias pré e pós operatórias de cada movimento avaliado.

**Tabela 3:** Médias da amplitude de movimento no pré-operatório e pós-operatório

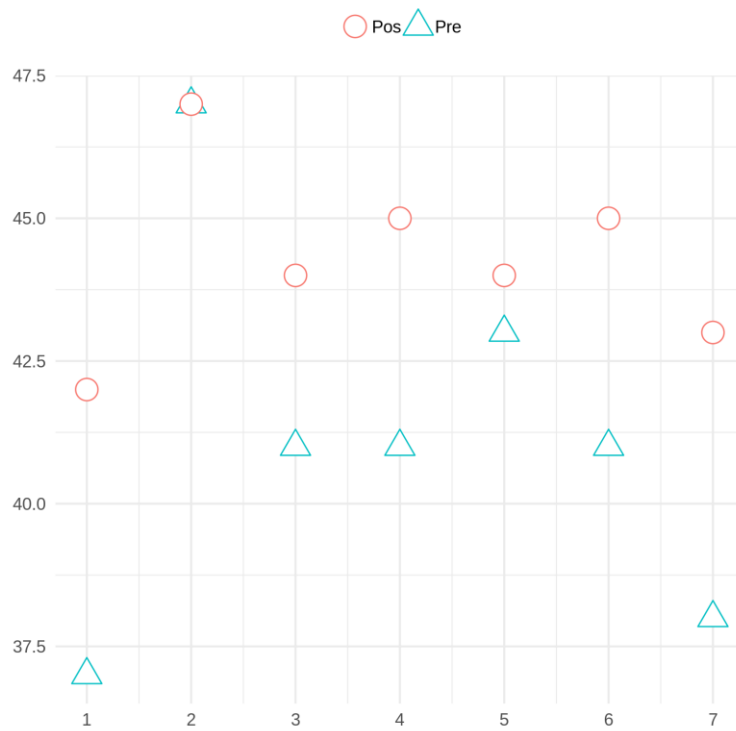
<b>Movimento</b>	<b>Pré op</b>	<b>Pós op</b>	<b>p value</b>
<b>Flexão</b>	154 ± 21.3	178.6 ± 5.3	0.02
<b>Extensão</b>	41.1 ± 3.3	44.3 ± 1.6	0.03
<b>Rotação externa</b>	80.4 ± 6.7	86.3 ± 2.5	0.03
<b>Rotação interna</b>	88.3 ± 2.4	89.7 ± 0.8	0.37

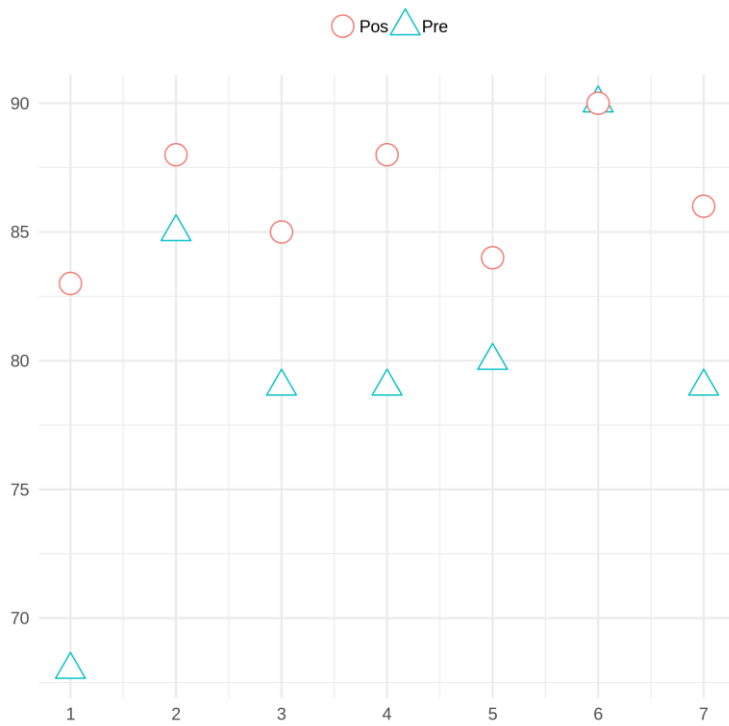
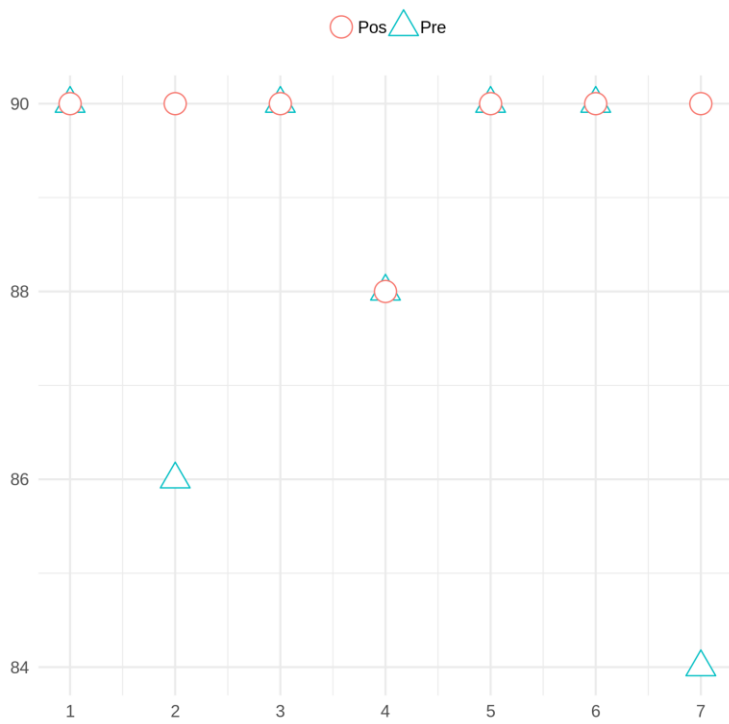
Os gráficos a seguir de 1 a 4 mostram os resultados individuais de cada movimento avaliado. Foram listados os resultados clínicos pré-operatórios e pós operatórios de cada ombro. Cada ombro foi identificado por um número e os números 5 e 6 correspondem ao paciente que apresentou osteonecrose bilateral.

**Gráfico 1:** Resultados pré-operatórios e pós operatórios do movimento de flexão do ombro



**Gráfico 2:** Resultados pré e pós operatórios do movimento de extensão do ombro



**Gráfico 3:** Resultados pré e pós operatórios do movimento de rotação externa do ombro**Gráfico 4:** Resultados pré e pós operatórios do movimento de rotação interna do ombro

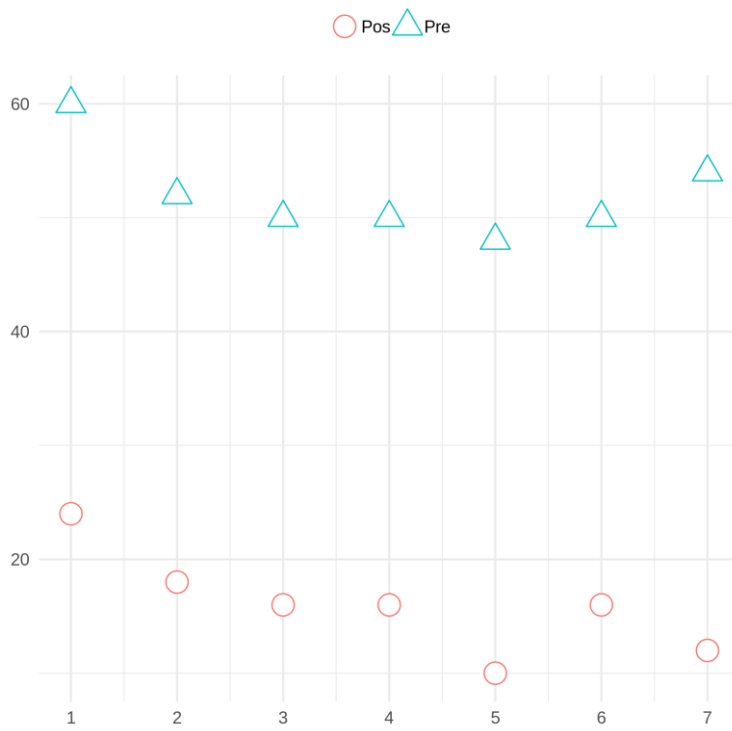
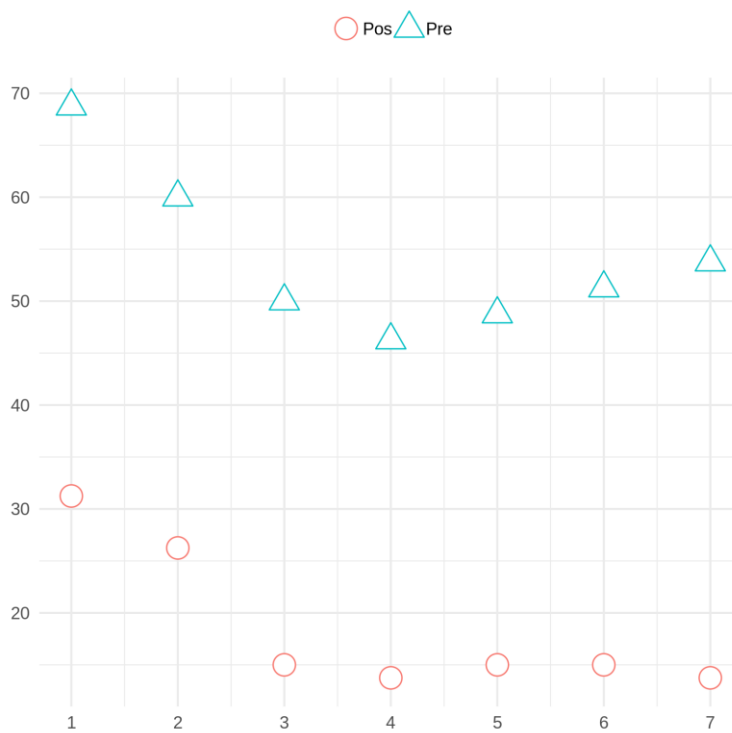
A avaliação clínica utilizando a escala do Shoulder Pain and Disability Index (SPADI) é dividida em dois domínios (dor e incapacidade) que combinados levam a um valor total que varia de 0-100 pontos. Quanto maior a pontuação maior a limitação provocada pela patologia do ombro.

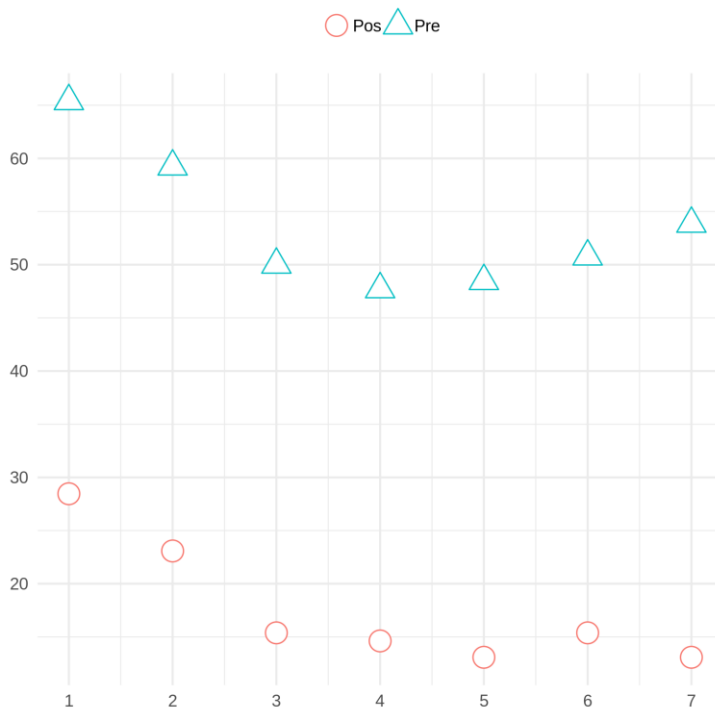
A tabela 4 mostra os valores médios pré-operatórios e pós operatórios. As três variáveis apresentaram variação estatisticamente significativa entre os valores antes e após o tratamento.

**Tabela 4:** Resultados do Shoulder Pain and Disability Index

<b>SPADI</b>	Pré op	Pós op	p value
<b>Escala de Dor</b>	52.0 ± 4.0	16.0 ± 4.5	0.02
<b>Escala de Incapacidade</b>	54.1 ± 7.8	18.6 ± 7.1	0.02
<b>Total</b>	53.6 ± 6.5	17.6 ± 5.9	0.01

Os gráficos de 5 a 7 mostram os resultados das escalas de dor, incapacidade e o valor total do SPADI para cada ombro avaliado. Cada ombro foi identificado por um número e os números 5 e 6 correspondem a paciente que apresentou osteonecrose bilateral.

**Gráfico 5:** Resultados pré e pós operatórios da escala de Dor**Gráfico 6:** Resultados pré-operatórios e pós operatórios da Escala de Incapacidade

**Gráfico 7:** Resultados pré-operatórios e pós-operatórios do valor total do SPADI

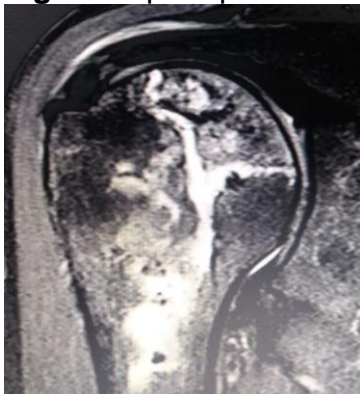
Quando feita comparação dos exames de ressonância pré-operatórios e pós-operatórios notamos redução do edema ósseo e extensão da osteonecrose em todos os pacientes. Nenhum dos pacientes apresentou deformidade da cabeça umeral ou sinais de osteoartrite ao longo do seguimento.



As figuras de número 8 a 21 mostram a comparação entre imagens de ressonância pré-operatória e pós-operatória de cada ombro operado.

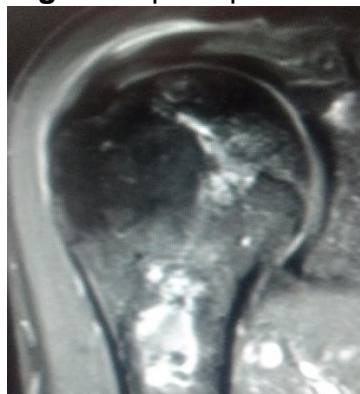
Paciente 1 (ombro 1):

**Figura 8:** pré op/ ombro 1



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 9:** pós op/ ombro 1



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

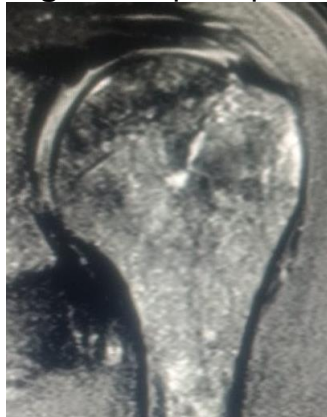
Paciente 2 (ombro 2):

**Figura 10:** pré op/ ombro 2



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 11:** pós op/ ombro 2



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Paciente 3 (ombro 3):

**Figura 12:** pré op/ ombro 3



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 13:** pós op/ ombro 3



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

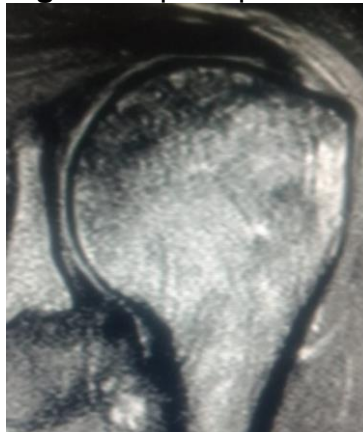
Paciente 4 (ombro 4):

**Figura 14:** pré op/ ombro 4



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 15:** pós op/ ombro 4



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Paciente 5 (ombro 5/ direito):

**Figura 16:** pré op/ ombro 5



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 17:** pós op/ ombro 5



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Paciente 5 (ombro 6/ esquerdo):

**Figura 18:** pós op/ ombro 6



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 19:** pós op/ombro 6



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Paciente 6 (ombro 7):

**Figura 20:** pré op/ ombro 7



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

**Figura 21:** pós op/ ombro 7



**Fonte:** Arquivo próprio, 2018.

Ao longo do seguimento pós-operatório não houve registro de intercorrências ou complicações relacionadas ao tratamento cirúrgico.

## 7- DISCUSSÃO

Técnicas de imunofenotipagem como a citometria de fluxo revelam informações relevantes, como o estágio de maturação das populações celulares analisadas. O ensaio de caracterização da medula total foi feito através de imunofenotipagem e análise dos marcadores de superfície celular CD45 (BD Biosciences), presentes em células hematopéticas e CD34 (BD Biosciences), e também em células precursoras

hematopoéticas. Sendo consideradas a população de interesse  $CD45^{low}CD34^{+}$ (WANG et al., 2012).

A hematopoese é um processo complexo e delicadamente estruturado onde as células tronco hematopoiéticas pluripotentes se diferenciam em células sanguíneas funcionais. A medula óssea é comumente usada como um reservatório ideal de transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). Células tronco hematopoiéticas (CTHs) são células progenitoras presentes em uma unidade de transplante conhecidas por serem células precursoras fundamentais de populações responsáveis para um transplante bem sucedido(ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). Após a infusão das células mononucleares da medula óssea, as células funcionais normalmente morrem em poucos dias. No entanto, as CTHs podem sobreviver a longo prazo, onde se diferenciam em células linfóides ou mieloides funcionais. As CTHs e células progenitoras expressam marcadores únicos de superfície que os distinguem de outros tipos de células. CD34 é uma molécula de adesão que é expressa em todas as células HSC e progenitoras. Desempenha um papel central no HSC e no reconhecimento de células progenitoras(REGO; SANTOS, 2009).

Os instrumentos de avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde têm sido considerados fundamentais para determinar o impacto de uma doença na vida do indivíduo, uma vez que existe a necessidade de se conhecer a consequência de uma doença, e não se restringir apenas ao diagnóstico clínico(TESTA; SIMONSON, 1996).

O Shoulder Pain and Disability Index (SPADI) é um questionário de qualidade de vida desenvolvido para avaliar a dor e a incapacidade associadas às disfunções do ombro sendo específico para esta articulação, e contém questões curtas que facilitam seu preenchimento, requerendo um tempo de 3 a 10 minutos. O SPADI consiste em 13 itens distribuídos no domínio de dor (cinco itens) e de função (oito itens), sendo que cada item pode receber pontuação de 0 a 10 pontos. A pontuação final do questionário, é obtida a partir dos valores obtidos em cada domínio separadamente, com a maior pontuação indicando pior função do ombro. O instrumento foi traduzido e validado para utilização no Brasil(MARTINS et al., 2010). Em artigo de 2009 o SPADI foi considerado confiável, válido e capaz de ser utilizado para grande número de patologias incluindo as cirúrgicas e não cirúrgicas(ROY; MACDERMID; WOODHOUSE, 2009).

Estudos abordando diferentes patologias, utilizaram o Shoulder Pain and Disability Index para avaliação de desfecho de tratamento. Nos casos de osteoartrite de ombro, patologia degenerativa e dolorosa do ombro foi encontrado o valor médio na escala de dor do SPADI é de  $74 \pm 3.6$  enquanto de incapacidade  $60 \pm 3.5$ . Em lesões do manguito rotador, estudo de 2017, encontrou valores de  $52.0 \pm 5.6$  na escala de incapacidade e  $33.1 \pm 3.6$  na escala de dor enquanto em casos de capsulite adesiva o valor total no SPADI foi em média de  $61.4 \pm 19.07$  (PHD SCHOLAR, MONAD UNIVERSITY, HAPUR, UP, INDIA et al., 2017; SHARMA et al., 2017; SINGH; MAHOWALD; NOORBALOOCHI, 2009). Os valores pré-operatórios encontrados em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral no presente estudo refletem a grave repercussão da patologia na qualidade de vida e função do ombro dos pacientes com doença falciforme. O valor médio foi de  $52 \pm 4.0$  na escala de dor,  $54.1 \pm 7.8$  na escala de incapacidade e  $53.6 \pm 6.5$  no valor total. A paciente número 01 apresentava osteonecrose extensa, sendo a única no estágio 03 de Cruess. A figura 8 mostra a ressonância pré-operatória desta paciente onde pode ser observado o comprometimento da cabeça umeral. Nesse caso, a avaliação pré-operatória mostrou uma pior pontuação pré-operatória (dor = 60, incapacidade = 68.75 e total = 64.37).

A cabeça umeral é o segundo local com maior incidência de osteonecrose, precedido pela cabeça do fêmur (DAVID et al., 1993; LEE; GOLDING; SERJEANT, 1981). Ainda assim, persiste uma escassez de literatura sobre necrose avascular do úmero proximal. Apesar de semelhanças na etiologia e na patogênese desse distúrbio entre esses sítios anatômicos, existem diferenças significativas entre as cabeças do úmero e do fêmur e sendo assim podemos considerar a necrose da cabeça femoral uma entidade clínica diferente da necrose da cabeça umeral (SARRIS; WEISER; SOTEREANOS, 2004). A articulação glenoumeral não é exposta as mesmas forças de sustentação de peso que a articulação do quadril. Além disso, a complexidade da cintura escapular permite acomodação, com menor limitação funcional, mesmo nos casos de deformidade significativa na doença avançada. Um aumento no movimento escapulotorácico pode compensar as restrições na articulação glenoumeral. Finalmente, diversos estudos com cadáveres mostraram que o úmero proximal tem uma oferta arterial anastomótica extensa, capaz de mitigar o efeito da perda de qualquer fluxo arterial simples (HASAN; ROMEO, 2002).

Diversas opções terapêuticas foram descritas para o tratamento de osteonecrose da cabeça umeral. O tratamento conservador consiste em medidas para melhora da dor, mudanças de fatores de risco que possam predispor a doença (abuso de álcool, uso de corticóide) e fisioterapia para manutenção/ ganho de arco de movimento e força muscular. Há limitação nos casos de necrose secundária a doença falciforme uma vez que não altera a evolução natural e não é possível modificar a doença de base. Nas doenças em estágio inicial a descompressão cirúrgica tem sido utilizado para o tratamento de osteonecrose em diversas articulações(SARRIS; WEISER; SOTERANOS, 2004).

Na literatura há estudos demonstrando bons resultados da descompressão para o tratamento de osteonecrose em pacientes cujo etiologia é uso de corticóide, álcool ou naqueles idiopáticos. Mont *et al* operaram com a técnica de descompressão 63 ombros de 43 pacientes(MONT; JACQUE; HUNGERFORD, 1997). Dezesesseis pacientes estavam em estágio I, 17 pacientes estavam no estágio II, 23 pacientes estavam no estágio III e sete pacientes estavam no estágio IV. Os resultados foram bem sucedidos em 94% dos pacientes em estágio I, 88% do estágio II pacientes, 70% dos pacientes em estágio III e 14% dos pacientes em estágio IV.

Apesar dos bons resultados com o emprego de descompressão para o tratamento de osteonecrose por outras etiologias, poucos estudos foram realizados com pacientes portadores de doença falciforme. Em 2016 Kennon *et al*(KENNON; SMITH; CROSBY, 2016) publicaram seu estudo em que foi realizada descompressão da cabeça umeral, seguida de estimulação com ultrassom, em 06 pacientes com doença falciforme em estágio I e II de Cruess. Todos os pacientes progrediram para estágios III e IV ao longo do primeiro ano de seguimento pós operatório e foram submetidos a artroplastia de ombro. A conclusão dos autores foi que a descompressão não altera a progressão para o colapso em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral secundária a doença falciforme.

Outra opção terapêutica para tratamento de osteonecrose da cabeça umeral é a artroplastia do ombro. As indicações para artroplastia na osteonecrose são semelhantes aos da osteoartrite do ombro, isto é, dor e disfunção significativas que não respondem ao tratamento não operatório. A artroplastia parece ser o tratamento com resultados mais previsíveis para osteonecrose da cabeça do úmero(DAVID *et al.*, 1993; GRUSON; KWON, 2009; SARRIS; WEISER; SOTERANOS, 2004). A idade é um grande preocupação na artroplastia do ombro e vários cirurgiões questionaram a durabilidade das próteses

ênfatizando a necessidade de múltiplas revisões do ombro em pacientes jovens. Apesar disso, Sperlig *et al* relataram taxas de sucesso de 84% e 73% para artroplastia total e hemiarthroplastia, respectivamente, em um seguimento de 15 anos em pacientes com idade menor que 50 anos (SPERIIRG; COFIELD; ROWLAND, 1998).

Um grande percentual de pacientes com osteonecrose da cabeça umeral necessitam ser submetidos a artroplastia do ombro. Hattrup e Cofield (HATTRUP; COFIELD, 1999), demonstraram que 42% dos pacientes em estágio 2, 29% em estágio 3, 55% em estágio 4 e 79% em estágio 5 pacientes necessitaram de artroplastia dentro de 3 anos após a apresentação. A extensão do envolvimento da cabeça na apresentação afetou significativamente a necessidade de artroplastia. Os casos de osteonecrose traumática tiveram necessidade de artroplastia com maior frequência do que suas contrapartes atraumáticas (78% vs 47%).

Poucos estudos mostraram os resultados da artroplastia de ombro para tratamento de osteonecrose em pacientes com doença falciforme. Em 2007, Lau *et al* publicaram seus resultados com artroplastia para esse grupo de pacientes com uma casuística de 08 pacientes, sendo essa a maior série publicada (LAU *et al.*, 2007). Os desfechos avaliados foram a dor e a pontuação na escala proposta pela American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES). Embora a média do ASES tenha melhorado de 15 para 46,9, os resultados foram piores em 1 de 3 grupos.

Ainda de acordo com o estudo de Lau *et al* o primeiro grupo incluiu aqueles com altos escores ASES e excelente alívio da dor (LAU *et al.*, 2007). Dois pacientes desse grupo tiveram melhoria em todas as medições de resultados, quase sem dor residual e recuperação funcional completa. Esses pacientes estavam muito satisfeitos com o resultado cirúrgico. O segundo grupo foi composto por 4 pacientes que teve resultados aceitáveis. Houve melhora na função, mas pouca ou nenhuma melhora na dor avaliada por escala visual analógica. O único grande diferença na dor pós-operatória foi que a dor foi intermitente, em vez de constante. O terceiro grupo compreendeu 2 pacientes que tinham piores resultados no ASES no pós-operatório em relação ao período pré operatório e sem melhora na dor. Quando avaliadas as complicações, foi reportada uma intraoperatória em que houve lesão do manguito rotador. Outro paciente evoluiu com rigidez articular tendo sido necessário a realização de nova cirurgia, por via artroscópica, para ganho de arco de movimento com melhora discreta. Um paciente evoluiu com sinais

radiográficos de infecção do componente protético com piora da dor. Dois pacientes apresentaram crise de falcização no pós operatório. Os autores concluem que a artroplastia do ombro proporcionou melhora na amplitude de movimento na maioria dos pacientes do estudo. No entanto, os resultados baseado no ASES foram piores do que na artroplastia para outros tipos de osteonecrose atraumática e não houve melhora significativa do quadro algico. A dor em curso pode estar relacionada a outros fatores associado com doença falciforme.

A importância de investigar novas alternativas terapêuticas para pacientes com doença falciforme se deve ao fato que a evidência científica atual mostra que os métodos atualmente disponíveis não são capazes de garantir bons resultados clínicos para este grupo de pacientes. Além disso, a evolução natural da doença em pacientes não tratados é de piora progressiva. Em 2012, Poignard *et al* reportaram a evolução do seguimento de 82 pacientes adultos (104 ombros) portadores sintomáticos de doença falciforme e osteonecrose da cabeça umeral(POIGNARD *et al.*, 2012). Na avaliação inicial, trinta e oito ombros sintomáticos foram classificados como estágio I, 42 ombros sintomáticos foram designados como estágio II e vinte e quatro ombros sintomáticos foram designados como estágio III ou IV. Ao longo do seguimento, recuperação parcial ou total com diminuição do tamanho da lesão osteonecrótica na ressonância ou no estágio da lesão não foi observada em nenhum dos 104 ombros avaliados. Na última avaliação (média de vinte anos; variação de quinze a vinte e quatro anos), o colapso ocorreu em oitenta e nove ombros (86%).

A terapia celular com implante autólogo de concentrado de células mononucleares da medula óssea tem sido usado com sucesso e segurança para o tratamento da osteonecrose do quadril em pacientes com doença falciforme(DALTRO *et al.*, 2015; HERNIGOU *et al.*, 2008; POIGNARD *et al.*, 2012). Além disso, novos estudos tem sido publicados mostrando bons resultados clínicos em pacientes com osteonecrose em outras localizações como nas osteonecroses do joelho(DALTRO *et al.*, 2018b).

Apenas um estudo foi publicado utilizando implante autólogo de concentrado de células mononucleares de medula óssea para o tratamento de osteonecrose de úmero. Em 2017, Makihara *et al* reportaram os resultados cirúrgicos de cinco ombros (quatro pacientes) que já estavam afetados por osteonecrose em estágio avançado, após o colapso, tratados com enxerto autólogo de medula óssea concentrado(MAKIHARA *et al.*,



2017). A etiologia da osteonecrose foi pós traumática em 01 caso e por corticoterapia em 03 casos. Quatro ombros obtiveram preservação articular com resultados clínicos favoráveis, apesar da piora radiográfica em um caso. Um dos ombros com doença no estágio 4 no período pré-operatório evoluiu com piora clínica e radiográfica resultando na necessidade de artroplastia.

Os resultados do presente estudo, com implante autólogo de células mononucleares da medula óssea para o tratamento de osteonecrose da cabeça umeral em pacientes com Doença Falciforme, no seguimento de curto prazo, foram excelentes com melhora da mobilidade, dor e função articular. A amplitude de todos os movimentos avaliados apresentaram melhora em relação ao pré-operatório com ganho estatisticamente significativo nos movimentos de flexão, extensão e rotação externa. A avaliação clínica utilizando a escala Shoulder Pain and Disability (SPADI) mostrou valores significativamente piores do que aqueles apresentados por pacientes com lesão do manguito rotador, segundo os dados disponíveis na literatura(SINGH; MAHOWALD; NOORBALOOCHI, 2009). O valor médio total do SPADI no pós-operatório foi de apenas  $17.6 \pm 5.9$  traduzindo a recuperação funcional dos pacientes. Foi observada melhora estatisticamente significativa nos dois domínios avaliados (dor e incapacidade) em todos os pacientes. Não foram registradas complicações da cirurgia ou relacionadas a crises de falcização em nenhum dos pacientes operados.

A utilização da ressonância no controle pós-operatório para resposta ao tratamento da osteonecrose continua controverso. Existem muitas variações de imagem entre os diferentes tipos de tecido que podem se formar após uma cirurgia preservadora da cabeça (terapia celular, descompressão ou enxertia). Há muitas diferenças de sinal na ressonância quando o tecido anormal (tecido normal, ossificação, tecido fibroso) é reparado com ausência de colapso. Portanto, neste momento, a maioria dos estudos clínicos mantém como desfecho a ausência de colapso durante a evolução clínica como um marcador de sucesso no tratamento(HERNIGOU et al., 2016). No presente estudo ocorreu melhora nos exames de ressonância realizados 01 ano após a cirurgia, quando comparados com os realizados no período pré-operatório. Houve redução do sinal de edema ósseo e extensão da área de necrose fato que não foi observado em outros tratamentos de acordo com a literatura. Nenhum dos pacientes operados evoluiu com colapso/ achatamento da cabeça umeral ou necessidade de artroplastia.

As principais limitações do estudo são o pequeno número de pacientes operados e o curto tempo de seguimento. Além disso, o estudo não tem um grupo controle. Isso se deve ao fato de que ainda não há técnica cirúrgica de referência para o tratamento desta patologia em pacientes com Doença Falciforme. Os resultados reportados por diversos autores foram ruins, não sendo possível adotar um método com padrão ouro de tratamento. Além disso, a inclusão de um grupo placebo não estaria de acordo com as recomendações éticas da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

## **8- CONCLUSÃO**

A terapia celular com implante autólogo de concentrado de células mononucleares da medula óssea melhora a amplitude de movimento e a pontuação no Shoulder Pain and Disability Index (SPADI) em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral secundária a doença falciforme. A terapia no experimento foi capaz de promover melhora nos exames de ressonância com redução do edema ósseo e da extensão da necrose após um ano da cirurgia. O tratamento foi seguro para o grupo de pacientes investigados não tendo sido encontradas complicações pós operatórias. Os pacientes selecionados devem ser aqueles que apresentam doença antes do colapso da cabeça umeral.

## 9-REFERÊNCIAS

ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

ACCIOLY, J. Anemia Falciforme – apresentação de um caso com infantilismo. **Tertúlias Acadêmicas**, v. 2, p. 169–198, 1947.

ANVISA, B. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes**. 1. ed. Brasília: [s.n.].

BAINBRIDGE, R. et al. Clinical presentation of homozygous sickle cell disease. **The Journal of pediatrics**, v. 106, n. 6, p. 881–885, 1985.

BAUM, K. F. et al. The painful crisis of homozygous sickle cell disease: a study of risk factors. **Archives of Internal Medicine**, v. 147, n. 7, p. 1231–1234, 1987.

BRASIL, M. DA SAÚDE. Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e Outras Hemoglobinopatias. **Diário Oficial da União**, 2005.

BUCK, J.; DAVIES, S. C. Surgery in Sickle Cell Disease. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 19, n. 5, p. 897–902, out. 2005.

COSTA, F. Anemia Falciforme. In: **Hematologia Fundamentos e Prática**. 1. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001. p. 289–307.

DALTRO, G. et al. Tratamento da osteonecrose da cabeça femoral com células progenitoras autólogas em anemia falciforme. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 23–27, 2008.

DALTRO, G. et al. Osteonecrose da cabeça femoral na anemia falciforme. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 3, 2010.

DALTRO, G. et al. Osteonecrosis in sickle cell disease patients from Bahia, Brazil: a cross-sectional study. **International Orthopaedics**, v. 42, n. 7, p. 1527–1534, jul. 2018a.

DALTRO, G. et al. 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, dez. 2018b.

DALTRO, G. C. et al. 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, dez. 2015.

DAVID, H. et al. The shoulder in sickle-cell disease. **J Bone Joint Surg Br**, v. 75, n. 4, p. 538–45, jul. 1993.

EMBURY, S.; VICHINSKY, E. Sickle cell disease. In: **Hematology: Basic Principles and Practice**. New York: Churchill Livingstone, 2000.

GÓMEZ-CHIARI, M.; PUIGBERT, J. T.; ARAMBURU, J. O. Drepanocitosis: experiencia de un centro. **Anales de Pediatría**, v. 58, p. 95–99, 2003.

GRUSON, K. I.; KWON, Y. W. Atraumatic osteonecrosis of the humeral head. **Bulletin of the NYU hospital for joint diseases**, v. 67, n. 1, p. 6–6, 2009.

HASAN, S. S.; ROMEO, A. A. Nontraumatic osteonecrosis of the humeral head. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 11, n. 3, p. 281–298, maio 2002.

HATTRUP, S. J.; COFIELD, R. H. Osteonecrosis of the humeral head: relationship of disease stage, extent, and cause to natural history. **Journal of shoulder and elbow surgery**, v. 8, n. 6, p. 559–564, 1999.

HERNIGOU, P. et al. Percutaneous implantation of autologous bone marrow osteoprogenitor cells as treatment of bone avascular necrosis related to sickle cell disease. **The open orthopaedics journal**, v. 2, p. 62, 2008.

HERNIGOU, P. et al. 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, 2016.

HERNIGOU, P. H. et al. Étude de 164 nécroseséppihysaires (hanches, épaules, genoux) chez 155 patients drépranocytaires- caractéristiques, aspect épidémiologique et éthiopatogénique. **Rev Rhum Mal Osteoartic**, v. 56, p. 869–875, 1989.

IÑÍGUEZ, E. et al. Detección precoz neonatal de anemia falciforme y otras hemoglobinopatías en la comunidad autónoma de Madrid. Estudio piloto. **An Pediatr**, v. 58, n. 2, p. 146–55, 2003.

JANG, W. et al. Rapid progressive atypical atraumatic osteonecrosis of humeral head -a case report. **Korean J Anesthesiol**, v. 66, n. 5, p. 398–401, maio 2014.

KENNON, J. C.; SMITH, J. P.; CROSBY, L. A. Core decompression and arthroplasty outcomes for atraumatic osteonecrosis of the humeral head. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 25, n. 9, p. 1442–1448, set. 2016.

LAU, M. W. et al. Shoulder arthroplasty in sickle cell patients with humeral head avascular necrosis. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 16, n. 2, p. 129–134, mar. 2007.

LEE, R. E. J.; GOLDING, J. S. R.; SERJEANT, G. R. The radiological features of avascular necrosis of the femoral head in homozygous sickle cell disease. **Clinical radiology**, v. 32, n. 2, p. 205–214, 1981.

MAKIHARA, T. et al. Autologous Concentrated Bone Marrow Grafting for the Treatment of Osteonecrosis of the Humeral Head: A Report of Five Shoulders in Four Cases. **Case Reports in Orthopedics**, v. 2017, p. 1–8, 2017.

MANWANI, D.; FRENETTE, P. S. Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies. **Blood**, v. 122, n. 24, p. 3892–3898, 5 dez. 2013.

MARQUES, A. **Manual de goniometria**. 2. ed. [s.l.] Manole, 2003.

MARTINS, J. et al. Versão brasileira do Shoulder Pain and Disability Index: tradução, adaptação cultural e confiabilidade. **Rev Bras Fisioter**, v. 14, n. 6, p. 527–36, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. Política Nacional de Saúde Integral da População Negra. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. **Doença Falciforme: Condutas Básicas**. Brasília: [s.n.].

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. Doença falciforme- diretrizes básicas da linha de cuidados. 2015.

MONT, M.; JACQUE, V.; HUNGERFORD, D. **The results of core decompression for avascular necrosis of the humeral head**. San Francisco: American Shoulder and Elbow Society, 1997.

MOORE, K.; DALLEY, A. **Anatomia orientada para clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

NAGEL, R. L.; FABRY, M. E.; STEINBERG, M. H. The paradox of hemoglobin SC disease. **Blood Reviews**, v. 17, n. 3, p. 167–178, set. 2003.

NETO, G.; PITOMBEIRA, M. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **JBPML**, v. 39, n. 1, p. 51–6, 2003.

PHD SCHOLAR, MONAD UNIVERSITY, HAPUR, UP, INDIA et al. COMPARISON OF LASER AND ULTRAOUND THERAPY FOR THE MANAGEMENT OF SHOULDER ROTATOR CUFF MUSCLES INJURY. **International Journal of Physiotherapy and Research**, v. 5, n. 5, p. 2364–2370, 11 out. 2017.

PLATH, O.; ROSENSTOCK, W.; ESPELEND, M. Influence of sickle hemoglobinopathies on growth and development. **New England Journal of Medicine**, v. 311, n. 1, p. 7–12, jul. 1984.

POIGNARD, A. et al. The Natural Progression of Symptomatic Humeral Head Osteonecrosis in Adults with Sickle Cell Disease: **The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume**, v. 94, n. 2, p. 156–162, jan. 2012.

REGO, E. M.; SANTOS, G. A. Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 31, n. 5, p. 367–74, 2009.

ROY, J.-S.; MACDERMID, J. C.; WOODHOUSE, L. J. Measuring shoulder function: A

systematic review of four questionnaires. **Arthritis & Rheumatism**, v. 61, n. 5, p. 623–632, 15 maio 2009.

SANTOS, M. N. et al. análise morfométrica do segmento distal do fêmur em portadores de anemia falciforme. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 3, 2010.

SARRIS, I.; WEISER, R.; SOTEREANOS, D. G. Pathogenesis and treatment of osteonecrosis of the shoulder. **Orthopedic Clinics of North America**, v. 35, n. 3, p. 397–404, jul. 2004.

SERJEANT, G. A doença da célula falciforme. **Anais Nestlè**, v. 58, p. 11–22, 1999.

SHARMA, S. P. et al. Predicting outcome in frozen shoulder (shoulder capsulitis) in presence of comorbidity as measured with subjective health complaints and neuroticism. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 18, n. 1, dez. 2017.

SINGH, J. A.; MAHOWALD, M. L.; NOORBALOOCHI, S. Intra-articular botulinum toxin A for refractory shoulder pain: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Translational Research**, v. 153, n. 5, p. 205–216, maio 2009.

SPERIIRG, J.; COFIELD, R.; ROWLAND, C. Neer hemiarthroplasty and Neer total shoulder arthroplasty in patients fifty years old or less- long-term results. **J Bone Joint Surg Br**, v. 80, p. 564–73, 1998.

TESTA, M. A.; SIMONSON, D. C. Assessment of quality-of-life outcomes. **New England journal of medicine**, v. 334, n. 13, p. 835–840, 1996.

WAMBIER, G.; WAMBIER, H.; PAULA, A. Aspectos de interesse relacionados à Anemia Falciforme. **Publicatio UEPG**, v. 13, n. 3, p. 45–52, 2007.

WANG, X. et al. **Multiparametric Immunophenotyping of Human Hematopoietic Stem Cells and Progenitor Cells by Flow Cytometry**. United States of America: BD Biosciences, jan. 2012.

ZHAO, D. et al. Treatment of early stage osteonecrosis of the femoral head with autologous implantation of bone marrow-derived and cultured mesenchymal stem cells. **Bone**, v. 50, n. 1, p. 325–330, jan. 2012.

## 10- ANEXOS

### 10.1 - Anexo 1 (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido)

#### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

---

Título do Estudo: “**Avaliação clínica e radiológica do tratamento da osteonecrose da cabeça umeral com implante de células mononucleares da medula óssea em pacientes com doença falciforme**”

Pesquisador: Dr. Gildásio Daltro

Dr. Thiago Batista Faleiro

---

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

OBSERVAÇÃO: Caso o paciente não tenha condições de ler e/ou compreender este TCLE, o mesmo poderá ser assinado e datado por um membro da família ou responsável legal pelo paciente.

---

#### **Objetivo do Estudo**

Objetivo: Avaliar o resultado clínico e radiológico do tratamento com implante autólogo de células mononucleares da medula óssea em pacientes com osteonecrose da cabeça umeral secundária a Doença Falciforme.

---

#### **Duração do Estudo**

A duração total do estudo é de 1 anos

A sua participação no estudo será de aproximadamente 1 ano

---

#### **Descrição do Estudo**

Este estudo será realizado no serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos

O (a) Senhor (a) foi escolhido (a) a participar do estudo porque é maior de 18 anos e portador de osteonecrose da cabeça umeral e doença falciforme.

---

---

### **Procedimento do Estudo**

Após entender e concordar em participar, serão solicitados exames pré operatórios e avaliação com anestesista. Após a avaliação pré operatória sua cirurgia será marcada.

A cirurgia será realizada na terça feira no turno da tarde e o senhor (a) deverá comparecer ao Hospital Universitário Professor Edgard Santos, para internação, na manhã do dia que estiver marcada a cirurgia.

O senhor (a) será submetido a anestesia geral e por meio de uma pequena incisão na bacia será colocada uma agulha para retirada de sangue da medula óssea. Um total de 120 ml de sangue da medula será retirado. Esse sangue será então enviado para separação das células mononucleares.

Após essa etapa, uma pequena incisão será feita no ombro. O concentrado de células mononucleares da medula óssea será então injetado na área de necrose com uma agulha. O tempo médio da cirurgia é de 02 horas. Após a cirurgia será utilizada uma imobilização do tipo "tipóia" por 02 dias e o senhor (a) realizará seguimento ambulatorial regular por 01 ano.

---

### **Riscos Potenciais, Efeitos Colaterais e Desconforto**

O risco relacionado a cirurgia é o de infecção e dor no local da incisão.

---

### **Benefícios para o participante**

O resultado esperado com o tratamento é a melhora da dor, da limitação funcional e evitar a piora da osteonecrose.

---

### **Compensação**

Você não receberá nenhuma compensação para participar desta pesquisa e também não terá nenhuma despesa adicional.

---

### **Participação Voluntária/Desistência do Estudo**

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, ou seja, você somente participa se quiser.

A não participação no estudo não implicará em nenhuma alteração no seu acompanhamento médico tão pouco alterará a relação da equipe médica com o mesmo. Após assinar o consentimento, você terá total liberdade de retirá-lo a qualquer momento e deixar de participar do estudo se assim o desejar, sem quaisquer prejuízos à continuidade do tratamento e acompanhamento na instituição.\_

---

### **Novas Informações**

Quaisquer novas informações que possam afetar a sua segurança ou influenciar na sua decisão de continuar a participação no estudo serão fornecidas a você por escrito. Se você decidir continuar neste estudo, terá que

---



---

assinar um novo (revisado) Termo de Consentimento Informado para documentar seu conhecimento sobre as novas informações.

---

### **Em Caso de Danos Relacionados à Pesquisa**

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

---

### **Utilização de Registros Médicos e Confidencialidade**

Todas as informações colhidas e os resultados dos testes serão analisados em caráter estritamente científico, mantendo-se a confidencialidade (segredo) do paciente a todo o momento, ou seja, em nenhum momento os dados que o identifique serão divulgados, a menos que seja exigido por lei.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em reuniões ou publicações, contudo, sua identidade não será revelada nessas apresentações.

---

### **Quem Devo Entrar em Contato em Caso de Dúvida**

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O Dr. Thiago Batista Faleiro, poderá ser encontrado no Ambulatório Magalhães Neto às terças e sextas – feiras (turno da manhã) ou 24 horas por dia por meio do telefone (71) 993723249.

O endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira é Rua do Limoeiro, número 137, Nazaré, Salvador, Bahia. CEP: 40055-150.

O telefone para contato do Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira é (71) 3283-9269.

---

### **Declaração de Consentimento**

Concordo em participar do estudo intitulado “**Avaliação clínica e radiológica do tratamento da osteonecrose da cabeça umeral com implante de células mononucleares da medula óssea em pacientes com doença falciforme**”.

Li e entendi o documento de consentimento e o objetivo do estudo, bem como seus possíveis benefícios e riscos. Tive oportunidade de perguntar sobre o estudo e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Entendo que estou livre para decidir não participar desta pesquisa. Entendo que ao assinar este documento não estou abdicando de nenhum de meus direitos legais.

---

Eu autorizo a utilização dos meus registros médicos (prontuário médico) pelo pesquisador, autoridades regulatórias e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição.

---

Nome do Sujeito de Pesquisa ( letra de forma ou à máquina)

---

Data

---

Assinatura do Sujeito de Pesquisa

---

Nome da Pessoa Obtendo o Consentimento

---

Assinatura da Pessoa Obtendo o Consentimento

---

Data

Thiago Batista Faleiro

---

Nome do Pesquisador

---

Assinatura do Pesquisador

---

Data

## 10.2 Anexo 2- Escala Shoulder Pain and Disability (SPADI)

### INFORMAÇÕES SOBRE ALGUNS ITENS

#### **Escala de Incapacidade (I)**

**Itens 3, 4 e 5:** Estes itens não apresentam a expressão “braço afetado”, porque as atividades a que se referem são realizadas normalmente com ambos os braços. Assim, o paciente deve relatar a atividade envolvendo a utilização de ambos os braços.

#### **Escala de Dor (D)**

**Item 1:** Este item pede ao paciente para indicar um número para a dor que ele teve no braço quando ela foi mais intensa. Como o questionário permite ao paciente estimar sua dor para os demais itens de dor, pode acontecer de sua pior dor na semana anterior ser menor que a dor indicada para algum item cujo nível de dor foi estimado. Recomenda-se refazer essa pergunta após pontuar os demais itens de dor.

*Exemplo: Na semana passada, a vez que meu braço mais doeu foi na terça-feira e se eu pudesse dar um número para ela, esse número seria 7.*

Pode-se deduzir, então, que na semana anterior o braço do paciente não doeu mais do que 7.

**Item 6 (I) e item 3 (D):** O paciente deve pensar em qualquer objeto que ele geralmente coloca em uma prateleira alta, no trabalho ou em casa. O objeto não precisa ser pesado.

### PONTUAÇÃO DO QUESTIONÁRIO SPADI-BRASIL

#### **1. Pontuação de cada escala separadamente**

- a) Dentro de cada escala, some os números marcados para cada item e, então, divida o valor da soma pela máxima pontuação possível na escala. O valor encontrado deve ser multiplicado por 100, obtendo-se a pontuação final para cada escala.
- b) Caso o paciente tenha marcado algum item como “Não se aplica”, este item não deve ser incluído na máxima pontuação possível na escala.

*Exemplo: Suponha que o paciente marcou 2 itens como “Não se aplica” na escala de incapacidade. Então, a máxima pontuação possível dessa escala deixa de ser 80 e passa a ser 60.*

#### **2. Pontuação total do questionário**

Some os números marcados para todos os itens do questionário e, então, divida o valor pela máxima pontuação possível no questionário (desconsiderando os itens que foram marcados como “Não se aplica”). O valor encontrado deve ser multiplicado por 100, obtendo-se a pontuação total do questionário.

#### **3. Significado da pontuação do questionário**

A pontuação total do questionário pode variar de 0 a 100, sendo que quanto maior a pontuação, pior a situação de dor e/ou função do paciente.

## ÍNDICE DE DOR E INCAPACIDADE NO OMBRO (SPADI-BRASIL)

Nome: \_\_\_\_\_ Braço avaliado: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Escala de Incapacidade**

Os números ao lado de cada item representam o grau de dificuldade que você teve ao fazer aquela atividade. O número zero representa "Sem dificuldade" e o número dez representa "Não conseguiu fazer". Por favor, indique o número que melhor descreve quanta dificuldade você teve para fazer cada uma das atividades durante a semana passada.

Se você não teve a oportunidade de fazer uma das atividades na semana passada, por favor, tente estimar qual número você daria para sua dificuldade.

Durante a semana passada, qual o grau de dificuldade que você teve para:		
1. Lavar seu cabelo com o braço afetado?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
2. Lavar suas costas com o braço afetado?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
3. Vestir uma camiseta ou blusa pela cabeça?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
4. Vestir uma camisa que abotoa na frente?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
5. Vestir suas calças?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
6. Colocar algo em uma prateleira alta com o braço afetado?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
7. Carregar um objeto pesado de 5kg (saco grande de arroz) com o braço afetado?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer
8. Retirar algo de seu bolso de trás com o braço afetado?	( ) NA	Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Não conseguiu fazer

Total \_\_\_\_\_/possível \_\_\_\_\_ x 100 = \_\_\_\_\_

**Escala de Dor**

Os números ao lado de cada item representam quanta dor você sente em cada situação. O número zero representa "Sem dor" e o número dez representa "A pior dor". Por favor, indique o número que melhor descreve quanta dor você sentiu durante a semana passada em cada uma das seguintes situações.

Se você não teve a oportunidade de fazer uma das atividades na semana passada, por favor, tente estimar qual número você daria para sua dor.

1. Qual a intensidade da sua dor quando foi a pior na semana passada?		Sem dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Pior dor
Durante a semana passada, qual a gravidade da sua dor:		
2. Quando se deitou em cima do braço afetado?	( ) NA	Sem dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Pior dor
3. Quando tentou pegar algo em uma prateleira alta com o braço afetado?	( ) NA	Sem dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Pior dor
4. Quando tentou tocar a parte de trás do pescoço com o braço afetado?	( ) NA	Sem dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Pior dor
5. Quando tentou empurrar algo com o braço afetado?	( ) NA	Sem dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Pior dor

Total \_\_\_\_\_/possível \_\_\_\_\_ x 100 = \_\_\_\_\_

PONTUAÇÃO TOTAL DO QUESTIONÁRIO: