

# Alterações na estrutura óssea relacionadas à idade

## Age-related changes in bone architecture

VINCENZO GIORDANO, ACBC-RJ<sup>1</sup>; JOSÉ SÉRGIO FRANCO<sup>2</sup>; HILTON AUGUSTO KOCH<sup>3</sup>; PEDRO JOSÉ LABRONICI<sup>4</sup>; ROBINSON ESTEVES S. PIRES<sup>5</sup>; NEY PECEGUEIRO DO AMARAL<sup>1</sup>.

### R E S U M O

**Objetivo:** avaliar as características histológicas e morfométricas de biópsias ósseas da região anterior da crista ilíaca de pacientes de diferentes faixas etárias. **Métodos:** foram estudadas 30 amostras de osso da crista ilíaca, utilizando-se microscopia óptica de campo claro. As amostras foram divididas pela faixa etária dos doadores em três grupos: Grupo 1 (n = 10), indivíduos com idade entre 25 e 39 anos; Grupo 2 (n = 10), indivíduos com idade entre 40 e 64 anos; Grupo 3 (n = 10), indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos. As amostras foram separadas aleatoriamente em dois conjuntos com 15 peças. No primeiro segmento do estudo (n = 15), foi avaliada histologicamente a propriedade osteogênica do enxerto, através da análise da reserva celular no periosteio, do número de osteócitos nas lacunas e da quantidade de canais de Havers e de Volkmann. No segundo segmento do estudo (n = 15), investigou-se morfologicamente a propriedade osteocondutora do enxerto, através da quantificação da rede trabecular (Vv) e da área trabecular (Sv). **Resultados:** histologicamente, observou-se que ocorre degeneração do tecido ósseo com a idade, caracterizada pelo adelgaçamento do periosteio, com substituição gradual da camada osteogênica por tecido fibroso, pequena quantidade de canais de Havers e de Volkmann, osteoplastos vazios e trabéculas finas de osso esponjoso, permitindo amplo espaço medular, em geral ocupado por células lipídicas e adipócitos. Morfologicamente, com relação à quantificação da rede trabecular (Vv), foi observada diferença estatisticamente significativa entre os Grupos 1 e 3 e entre os Grupos 2 e 3, com redução da rede trabecular de cerca de 45% no idoso acima de 65 anos de idade; não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os Grupos 1 e 2. Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto à Sv. **Conclusão:** os achados do presente experimento sugerem que nos indivíduos idosos (acima de 65 anos de idade), a propriedade osteogênica do enxerto ósseo autólogo diminui e a propriedade osteocondutora está comprometida.

**Descritores:** Desenvolvimento Ósseo; Osso/biópsia; Osso/anatomia & histologia; Propriedades do osso; Ílio; Transplante ósseo.

### INTRODUÇÃO

O uso de enxerto ósseo é procedimento comum na prática ortopédica atual. Embora em nossa literatura não existam dados com relação ao número de enxertos realizados a cada ano, Heppenstall estimava que cerca de 200.000 enxertias ósseas eram realizadas por ano nos Estados Unidos no início da década de 80<sup>1</sup>. Situações clínicas como retardo de consolidação, não-união, grandes defeitos ósseos pós-ressecções tumorais ou infecções são frequentemente manejadas com a aplicação de enxerto ósseo<sup>2-4</sup>. Historicamente, a utilização de autoenxertia é a primeira opção nestes casos. Suas propriedades osteogênicas (celularidade), osteocondutora (fatores de crescimento e diferenciação ósseos) e osteocondutora (matriz extracelular) são de extrema importância nesta escolha, uma vez que até o momento

nenhum substituto ósseo existente conseguiu reproduzir todas estas características<sup>5,6</sup>. Apesar disto, diversos autores têm apontado desvantagens e complicações relacionadas ao uso do autoenxerto<sup>7,8</sup>. As fontes e a quantidade de enxerto são limitadas e a morbidade no sítio doador é frequente, em última análise exercendo profundo efeito no resultado final do tratamento. Além disto, estudos recentes vêm demonstrando potencial osteogênico reduzido em algumas situações clínicas, como por exemplo, *Diabetes Mellitus*, em pacientes com idade avançada e após uso crônico de corticosteroides, nicotina e álcool<sup>9-11</sup>.

O objetivo dos autores foi avaliar as características histológicas e morfométricas de biópsias ósseas da crista ilíaca anterior de pacientes de diferentes faixas etárias, utilizando microscopia óptica de campo claro.

1 - Serviço de Ortopedia e Traumatologia Professor Nova Monteiro do Hospital Municipal Miguel Couto, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 2 - Departamento de Traumatologia-Ortopedia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 3 - Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 4 - Departamento de Ortopedia e Traumatologia Professor Donato D'Angelo do Hospital Santa Teresa, Petrópolis, RJ, Brasil. 5 - Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

## MÉTODOS

Em um período de seis meses, foram colhidos 57 fragmentos ósseos da região anterior da crista íliaca de pacientes submetidos a cirurgias ortopédicas no serviço de ortopedia do autor principal. Todos os pacientes assinaram consentimento livre e esclarecido, e o estudo foi aprovado pela Comissão de Revisão da Instituição do autor principal.

Das 57 biópsias realizadas, as 30 melhores peças para análise microscópica foram selecionadas; dessas, 15 foram selecionadas aleatoriamente para análise histológica e 15 para análise morfológica. O material foi dividido pela faixa etária dos doadores em três grupos: Grupo 1 (n = 10), indivíduos com idade inferior a 39 anos; Grupo 2 (n = 10), indivíduos com idade entre 40 e 64 anos; Grupo 3 (n = 10), indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos. Os dados demográficos dos pacientes encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Todos os pacientes foram operados em decúbito dorsal horizontal. Para a retirada do enxerto ósseo, foi realizado acesso curvilíneo sobre a região anterior da crista íliaca de cerca de 5cm, com dissecação por planos até o perióstio. Retirou-se bloco corticoesponjoso de 1cm<sup>3</sup>, preservando-se o perióstio. Não foi utilizado bisturi elétrico durante a biópsia óssea. O material foi colocado em frasco contendo 3ml de paraformaldeído a 10%, tamponado por cinco dias e encaminhado para estudos histológico e morfológico.

Análise histológica: após a fixação, os fragmentos foram descalcificados em ácido nítrico a 5% por cinco dias, desidratados em álcool, clarificados e incluídos em parafina. Foram realizados cortes de 5µm de espessura, sagitalmente ao plano longitudinal do bloco ósseo, com micrótomo *Spencer*<sup>®</sup> (*American Optical*, EUA). Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina (H&E), segundo metodologia descrita por Bancroft e Cook<sup>12</sup>. Utilizou-se neste estudo microscopia óptica de campo claro (*Olympus*<sup>®</sup> BHs-RFCA, Japão).

**Tabela 1.** Dados demográficos dos pacientes utilizados para análise histológica.

SEXO	IDADE (em anos)	DIAGNÓSTICO	CIRURGIA REALIZADA	COMORBIDADES
M	35	Artrose do tornozelo E	Artrodese tíbio-társica E	ALC, TAB
M	21	PA do fêmur D	RAFI	-
M	22	PA do fêmur D	RAFI	-
M	26	Fratura do 2º metacarpo D	RAFI	ALC
M	30	PA dos úmeros D e E	RAFI	-
M	57	PA do úmero E	RAFI	-
F	48	PA do úmero D	RAFI	-
F	56	Fratura do terço proximal do úmero D	RAFI	-
M	48	Fratura do colo do úmero D	RAFI	-
F	57	PA da tibia D	RAFI	DM, TAB, Hipotireoidismo
F	77	Fratura do platô tibial D	RAFI	ALC
F	72	Fratura supracondileana do fêmur D	RAFI	ALC
M	84	Fratura do terço proximal do úmero D	RAFI	HAS
F	73	Fratura do terço distal da tibia E	RAFI	-
F	72	Fratura diafisária de fêmur E	RAFI	-

Fonte: SOT, 2015

Legendas: M - masculino; F - feminino; E - esquerda; D - direita; PA - pseudoartrose; RAFI - redução aberta e fixação interna; ALC - alcoolismo; TAB - tabagismo; DM - diabetes mellitus; HAS - hipertensão arterial sistêmica

**Tabela 2.** Dados demográficos dos pacientes utilizados para análise morfométrica.

SEXO	IDADE (em anos)	DIAGNÓSTICO	CIRURGIA REALIZADA	COMORBIDADES
F	25	PA do fêmur E	RAFI	-
F	35	PA do fêmur E	RAFI	HAS
M	21	PA do tíbia D	RAFI	ALC
M	19	PA do úmero D	RAFI	-
M	30	Fratura subtrocantérian D	RAFI	-
M	57	PA do úmero E	RAFI	-
F	56	Fratura do platô tibial E	RAFI	-
M	44	Fratura do platô tibial D	RAFI	-
M	47	PA da ulna E	RAFI	-
M	40	Fratura do platô tibial E	RAFI	-
F	74	Fratura de rádio E	RAFI	-
F	65	PA da tíbia D	FE	HAS, TAB
F	72	Fratura do úmero D	RAFI	-
F	72	PA da tíbia D	FE	-
F	73	Fratura do terço distal da tíbia E	RAFI	-

Fonte: SOT, 2015

Legendas: M - masculino; F - feminino; E - esquerda; D - direita; PA - pseudoartrose; RAFI - redução aberta e fixação interna; FE - fixação externa; ALC - alcoolismo; TAB - tabagismo; HAS - hipertensão arterial sistêmica

A leitura histológica foi realizada sempre pelo mesmo pesquisador, de forma cega, sistematicamente de acordo com roteiro previamente definido (Tabela 3).

Análise morfométrica: após a fixação, os fragmentos foram descalcificados em ácido nítrico a 5% por cinco dias, desidratados em álcool, clarificados e incluídos em parafina. Foram realizados cortes de 10µm de espessura no osso esponjoso, transversalmente ao plano longitudinal do bloco ósseo, com micrótomo *Spencer®* (*American Optical*, EUA). Os cortes foram corados com H&E e estudados por microscopia óptica de campo claro (*Olympus®* BHs-RFCA, Japão)<sup>12</sup>. A análise morfométrica foi realizada sempre pelo mesmo pesquisador, de forma cega. A quantidade da rede trabecular (Vv) e a área da rede trabecular (Sv) do osso

esponjoso foram calculadas, segundo o método utilizado por Tabor, e os resultados tratados estatisticamente, com nível de significância  $\alpha = 0,05$ <sup>13</sup>. Utilizou-se o teste ANOVA para comparação entre os grupos e o teste de comparação múltipla de Newman-Keuls para comparações pareadas<sup>14-17</sup>.

## RESULTADOS

### ANÁLISE HISTOLÓGICA

#### Periosteio

Nos indivíduos jovens (Grupo 1), o periosteio apresentava-se bastante espessado e aderido, com sua camada osteogênica bem visível, demonstrando grande quantidade de células osteogênicas (pré-osteoblastos e

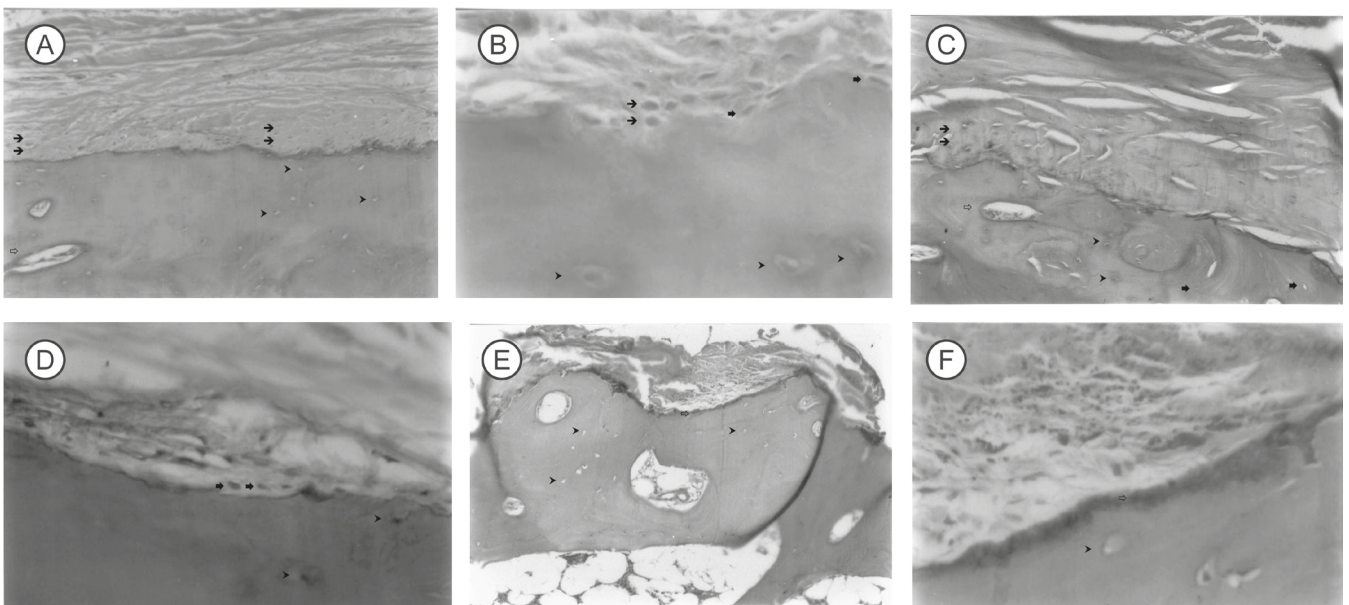
**Tabela 3.** Análise histológica.

Periosteio	Ossos cortical	Ossos esponjoso
Celularidade (camada osteogênica)	Celularidade (osteócitos em osteoplastos)	Medula óssea
Linha cimentante externa (presença de proteoglicanas ácidas)	Espessura óssea	Espessura das trabéculas ósseas
	Canais de Havers e de Volkmann	

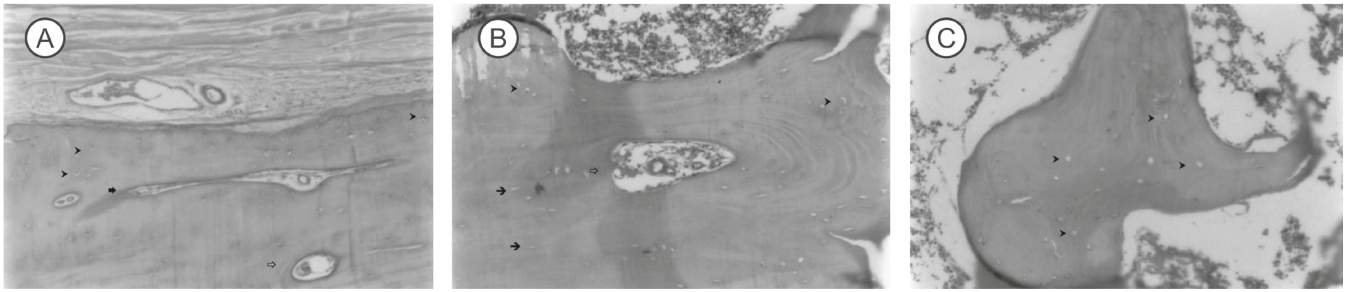
osteoblastos). Em sua superfície óssea, justa-cortical, foi observada linha cimentante basofílica, com inúmeros osteoblastos de superfície em repouso (*line cells*) e em algumas áreas a presença de lacunas de remodelação, com agregados de osteoblastos altamente secretores, depositando nova matriz osteóide (Figuras 1A e 1B). Nos indivíduos do Grupo 2 (entre 40 e 64 anos de idade), o periósteo apresentava-se parcialmente destacado, irregular e fino. A camada osteogênica estava visível. A linha cimentante externa encontrava-se irregular e basofílica, com diversos osteoblastos de superfície em repouso (Figuras 1C e 1D). Quase não foram observadas lacunas de remodelação. No Grupo 3 (idosos), o periósteo encontrava-se parcialmente destacado e fino. A camada osteogênica era extremamente reduzida, pobre em células osteogênicas, em algumas áreas com aspecto celular misto (pré-osteoblastos, fibroblastos e osteoblastos). A linha cimentante externa estava francamente basofílica, muito irregular, com alguns agregados de osteoblastos sem aspecto de estarem secretando nova matriz (Figuras 1E e 1F).

#### Ossos cortical

No Grupo 1 (indivíduos com menos de 39 anos de idade), a cortical óssea estava espessa, com inúmeros canais de Havers de grande diâmetro e lamelas concêntricas. Era grande a quantidade de osteócitos nas lacunas (média de seis por campo, H&E, x400), sem contar as lacunas vazias. Havia uma média de 1,6 canais de Volkmann por campo (H&E, x100) (Figura 2A). Nos indivíduos entre 40 e 64 anos de idade (Grupo 2), a cortical óssea apresentava-se mais fina do que nos jovens (Grupo 1), ocupando menor área e demonstrando menor diâmetro e quantidade de canais de Havers e de Volkmann (média de 0,6 por campo, H&E, x100). Havia uma média de quatro osteócitos por campo (H&E, x400) (Figura 2B). Nos indivíduos acima de 65 anos de idade (Grupo 3), a cortical óssea estava extremamente delgada, com pequena quantidade de canais de Havers. Em determinadas áreas era evidente a diminuição da matriz colágena. Quase todas as lacunas encontravam-se vazias, com média de dois osteócitos por campo (H&E, x400) (Figura 2C). Havia uma média de 0,4 canais de Volkmann por campo (H&E, x100).



**Figura 1.** Fotomicrografia de cortes histológicos de biópsias da região anterior da crista ilíaca anterior de adultos - PERIÓSTEO. A e B (Grupo 1) – Periósteo espesso, aderido ao osso cortical, com camada osteogênica bem definida, rica em células osteogênicas (→). Linha cimentante basofílica e cortical com numerosas lacunas preenchidas por osteócitos (▶). Notar canal de Volkmann (⇔) no menor aumento e lacuna de remodelação com osteoblastos secretores (→), osteoblastos de superfície em repouso (➤) e osteócitos nas lacunas (▶) em maior aumento (H&E, x100 / H&E, x400); C e D (Grupo 2) – Periósteo afinado, parcialmente destacado do osso cortical, com camada osteogênica rica em células osteogênicas (→). Linha cimentante pouco basofílica e cortical com um misto de lacunas preenchidas por osteócitos (▶) e lacunas vazias (◻). Notar canal de Havers em formação (⇔) no menor aumento e osteoblastos de superfície em repouso (➤) e osteócitos nas lacunas (▶) em maior aumento (H&E, x100 / H&E, x400); E e F (Grupo 3) – Periósteo fino, completamente destacado do osso cortical, com camada osteogênica delgada e celularidade mista. Linha cimentante francamente basofílica (⇔) e cortical com a maioria das lacunas de osteócitos vazias (▶) (H&E, x100 / H&E, x400)



**Figura 2.** Fotomicrografia de cortes histológicos de biópsias da crista ilíaca anterior de adultos – OSSO CORTICAL. A (Grupo 1) – Osteoplastos preenchidos em sua maioria (▶). Notar a presença de canais de Havers (⇔) e de Volkmann (◆) (H&E, x100); B (Grupo 2) – Osteoplastos preenchidos (▶) e osteoplastos vazios (➔). Notar canal de Havers ao centro (⇔) (H&E, x100); C (Grupo 3) – Osteoplastos vazios em sua maioria (▶) (H&E, x100).

### Ossos esponjosos

Nos jovens (Grupo 1), a medula óssea encontrava-se íntegra, em geral apresentando pequenas áreas de necrose na periferia e, menos frequentemente, áreas de hemorragia. As trabéculas ósseas eram bem visíveis, bastante espessas, fazendo redes, com aspecto de continuidade (Figura 3A). Não foram observados osteoclastos. Nos indivíduos do Grupo 2 (entre 40 e 64 anos de idade), a medula óssea estava íntegra, com áreas de necrose periférica e de hemorragia. As trabéculas ósseas eram mais delgadas do que nos jovens (Grupo 1), em geral paralelas, mas ainda com aspecto de rede (Figura 3B). Em uma biópsia foi observada a presença de osteoclastos (MLCC, 57 anos de idade). Nos idosos (Grupo 3), as trabéculas ósseas eram bem delgadas, em rede, permitindo amplos espaços medulares, ocupados por células lipídicas e adipócitos (Figura 3C). A medula óssea era escassa e havia grande quantidade de áreas de necrose na periferia. Não foram observados osteoclastos.

### ANÁLISE MORFOMÉTRICA

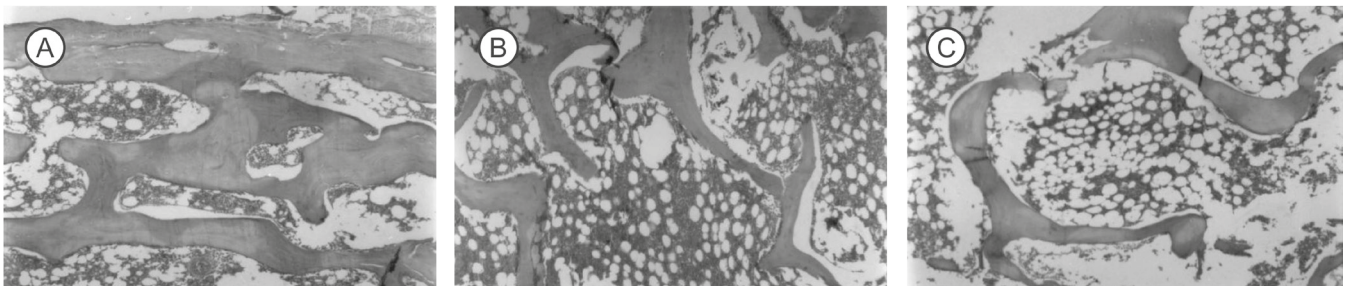
A quantidade da rede trabecular (Vv) foi de  $52,2 \pm 5,0$  (média  $\pm$  DP) no Grupo 1,  $52,1 \pm 13,3$  (média

$\pm$  DP) no Grupo 2 e  $28,9 \pm 2,9$  (média  $\pm$  DP) no Grupo 3. Houve perda significativa da Vv entre os grupos estudados ( $p < 0,05$ , ANOVA), com a população idosa (Grupo 3) apresentando redução de 45% da rede trabecular no osso esponjoso ( $p < 0,01$ , Newman-Keuls). Entre os Grupos 1 e 2 não foi observada diferença estatisticamente significativa com relação a Vv ( $p > 5\%$ , Newman-Keuls) (Figura 4).

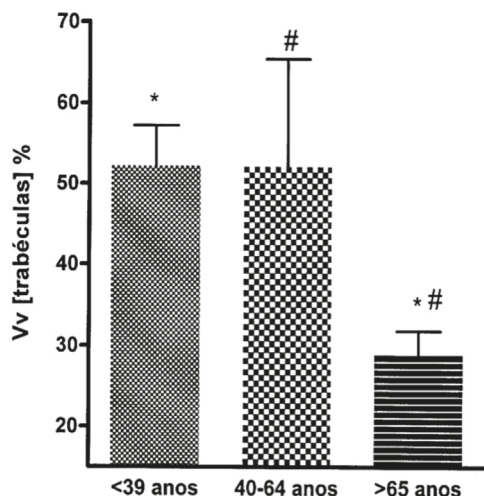
A área da rede trabecular (Sv) foi de  $6,35 \pm 0,82$  (média  $\pm$  DP) no Grupo 1,  $5,96 \pm 0,62$  (média  $\pm$  DP) no Grupo 2 e  $6,6,9 \pm 0,98$  (média  $\pm$  DP) no Grupo 3. Não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA e Newman-Keuls) (Figura 5).

## DISCUSSÃO

O desenvolvimento de novos biomateriais com o objetivo de mimetizar as características do enxerto ósseo autólogo tem avançado nos últimos anos. Estudos *in vitro* e investigações clínicas vêm sugerindo que alguns destes substitutos ósseos podem de fato estimular a consolidação<sup>18,19</sup>. No entanto, a grande diversidade entre os



**Figura 3.** Fotomicrografia de cortes histológicos de biópsias da crista ilíaca anterior de adultos – OSSO ESPONJOSO. A (Grupo 1) – Trabéculas ósseas espessas, formando redes, com pequeno espaço medular (H&E, x100); B (Grupo 2) Trabéculas ósseas mais finas, mas ainda formando redes, com espaço medular aumentado em relação ao Grupo 1 (H&E, x100); C (Grupo 3) – Trabéculas ósseas finas e interrompidas, com amplo espaço medular preenchido por células lipídicas e adipócitos (H&E, x100)



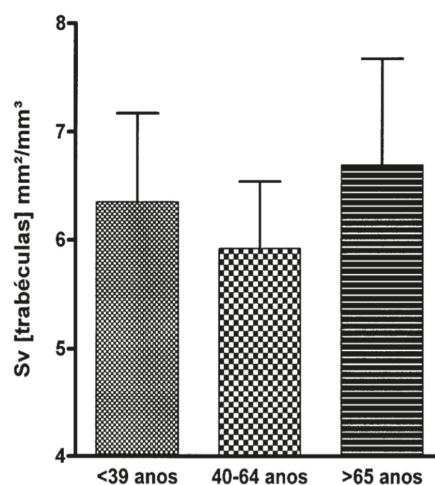
**Figura 4.** Quantidade da rede trabecular (Vv) – Houve perda significativa da Vv entre os grupos estudados ( $p < 0,05$ , ANOVA), com a população idosa (Grupo 3) apresentando redução de 45% da rede trabecular no osso esponjoso ( $p < 0,01$ , Newman-Keuls). Entre os Grupos 1 e 2 não foi observada diferença estatisticamente significativa com relação a Vv ( $p > 5\%$ , Newman-Keuls).

biomateriais disponíveis e a má compreensão acerca dos mecanismos pelos quais estas substâncias participam no processo de reparo ósseo tornam sua aplicação limitada<sup>2,18</sup>. Ainda hoje, o uso de enxerto autógeno é a melhor solução para reconstrução de grandes defeitos ósseos e estímulo osteogênico à consolidação de fratura<sup>2-5</sup>. Sua estrutura única fornece excelente mecanismo de autorregulação e capacidade de adaptação funcional. Sua matriz sólida facilita a troca de sinais mecanobiológicos, bioquímicos e eletromecânicos endógenos e exógenos do sistema ao qual é exposta para as células responsáveis pela modelação do tecido ósseo<sup>6,20</sup>. A soma destas interações determina o sucesso ou a falha do procedimento de enxertia. Em geral, quanto menos ativo biologicamente, mais dependente do sítio receptor se torna o enxerto ósseo<sup>2,6</sup>. Tal aspecto da fisiologia óssea ganha mais importância a partir do momento que estudos recentes têm mostrado que ocorrem alterações complexas na micro-arquitetura do esqueleto ao longo da vida, com redução principalmente do volume e da densidade do osso trabecular e do tecido hematopoiético<sup>21-24</sup>.

Birkenhäger-Frenkel *et al.* investigaram com microscopia eletrônica biópsias de íliaco de 94 espécimes humanos entre 20 e 80 anos de idade<sup>21</sup>. Notaram que tanto a área de osso trabecular quanto o número de trabéculas reduzem com a idade em áreas comumente utili-

zadas como sítios doadores de enxerto ósseo. Burkhardt *et al.* analisaram retrospectivamente por microscopia óptica 81 biópsias da crista íliaca e 400 amostras de crista íliaca, esterno, vértebra lombar, calcâneo e terço distal do rádio retiradas entre duas e 12 horas *postmortem* de 79 indivíduos normais de diferentes grupos etários (um a 96 anos de idade)<sup>22</sup>. Observaram que os volumes do osso trabecular, da matriz osteoide e do tecido hematopoiético e o número de células estão condicionados à idade, com diminuição gradual nos indivíduos mais idosos. Seus resultados indicam possível papel da microcirculação na gênese destas alterações, uma vez que a redução no número de sinusóides é comum na população geriátrica, sempre acompanhada de aplasia da medula hematopoiética e aumento no número de células de gordura. Rehman *et al.* estudaram através de análise semi-automatizada de imagens biópsias de íliaco de 234 indivíduos entre 16 e 100 anos de idade. Encontraram que o volume de osso trabecular diminui com a idade em ambos os sexos, atingindo valores estatisticamente significativos entre 61 e 70 anos nas mulheres (56% de redução) e entre 81 e 90 anos nos homens (34% de redução)<sup>24</sup>.

Baseando-se nos achados destes autores<sup>21-24</sup>, no presente experimento foram estudadas as características histológicas e morfométricas de biópsias ósseas da crista íliaca anterior. Os pacientes foram divididos em três grupos de diferentes faixas etárias. Com relação aos Grupos 1 e 2, a divisão baseou-se no declínio hormonal e consequente deterioração da micro-estrutura do tecido



**Figura 5.** Área da rede trabecular (Sv) – Não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA e Newman-Keuls).

ósseo que ocorrem por volta dos 40 anos de idade, principalmente nas mulheres. Sabe-se que existe relação direta entre densidade óssea reduzida e fratura patológica<sup>25</sup>. A inclusão do Grupo 3 seguiu a orientação da Organização Mundial de Saúde, que denomina de "idoso" o indivíduo com idade igual ou superior a 65 anos<sup>26</sup>.

Histologicamente, observou-se que ocorre degeneração do tecido ósseo com a idade. Nos indivíduos dos Grupos 1 (idade inferior a 40 anos) e 2 (entre 40 e 64 anos de idade), o perióstio osteogênico encontrava-se bastante espessado, rico em células de linhagem óssea (pré-osteoblastos e osteoblastos). Na cortical, havia grande quantidade de canais nutritivos (Havers) e comunicantes (Volkmann) e a maioria dos osteoplastos encontrava-se preenchida. As trabéculas do osso esponjoso eram bem visíveis, espessas (o que ficou mais evidente no Grupo 1) e dispostas em rede. No Grupo 3 (idade superior a 65 anos), o perióstio estava fino, pobre em células osteogênicas, embora apresentasse intensa basofilia na linha cimentante, denotando aumento da síntese dos proteoglicanos ácidos. Substituição gradual da camada osteogênica por tecido fibroso, desequilíbrio do *turnover* ósseo e redução da atividade osteoblástica podem estar associados à presença da celularidade mista e à diminuição da matriz colágena observada nestes indivíduos<sup>27</sup>. No osso cortical, havia pequena quantidade de canais de Havers e de Volkmann e quase todos os osteoplastos encontravam-se vazios. Diversos autores têm observado que o número de osteoplastos ocupados cai de 95% aos dez anos de idade para cerca de 70% aos 40 anos<sup>28-30</sup>. Parfitt demonstrou que o número de osteócitos reduz significativamente com a idade, havendo declínio na densidade total e na proporção das lacunas ocupadas, principalmente nas camadas mais profundas do osso cortical<sup>30</sup>. Em última análise, a deficiência de osteócitos pode contribuir para a fragilidade óssea observada nos idosos<sup>31</sup>. Por fim, no osso esponjoso, as trabéculas eram delgadas, permitindo amplo espaço medular, em geral ocupado por células lipídicas e adipócitos.

Uma vez que a estrutura do osso esponjoso é fator determinante da resistência óssea, classicamente vêm sendo proposta a adoção de procedimentos para quantificação do osso trabecular<sup>32-39</sup>. Croucher *et al.* mostraram forte correlação entre diferentes índices de avaliação da estrutura óssea, como análise da ultraestrutura, volume estrelado e padrão de fator do osso trabecular<sup>32</sup>.

Kubik *et al.* confirmaram o valor destes métodos, principalmente na descrição das alterações do osso trabecular relacionadas à idade nos indivíduos com mais de 50 anos<sup>34</sup>. Vesterby mostrou aumento do volume estrelado no espaço medular da crista ilíaca e da primeira vértebra lombar em dez cadáveres humanos com idades entre 27 e 87 anos, sugerindo que a redução do osso trabecular ocorre em todas as estruturas ósseas dos idosos<sup>39</sup>. No presente experimento, utilizamos a quantidade da rede trabecular (Vv) e a área da rede trabecular (Sv). Foi observada diferença estatisticamente significativa dos Grupos 1 e 2 com relação ao Grupo 3 quanto à Vv, com redução de 45% no idoso, mas não entre os Grupos 1 e 2. Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto à Sv. A interpretação destes resultados denota claramente que a reabsorção do osso trabecular ocorre com a idade, manifestando-se clinicamente pelo aumento do risco de fratura nos indivíduos mais idosos<sup>40</sup>.

Essas observações podem ser extrapoladas com relação à qualidade do tecido ósseo retirado da crista ilíaca anterior e seu uso como enxerto em situações em que exista a necessidade de sustentação estrutural (por exemplo, em fraturas do platô tibial ou do corpo vertebral) ou de estímulo osteogênico (como em retardes de consolidação ou pseudoartroses avasculares) na população idosa. Ao menos duas de suas propriedades fundamentais, entenda-se a osteogenicidade e a osteocondução, estão definitivamente comprometidas nessa população etária. A redução da espessura das trabéculas, o aumento da distância intertrabecular e a diminuição numérica dos osteócitos potencialmente tornam o osso do ilíaco do paciente idoso menos resistente e de baixa qualidade. Assim, acreditamos que a retirada de enxerto ósseo da crista ilíaca deva ser evitada na população idosa, devendo-se pensar em outras fontes doadoras. Papavero e Santin demonstraram que a retirada de enxerto ósseo autólogo do terço distal do fêmur e do terço proximal da tíbia é uma boa opção nestes indivíduos<sup>5</sup>. Outra boa alternativa é o uso do sistema de fresagem aspirativa com irrigação (*reamer irrigator aspirator* - RIA) nos ossos longos dos membros inferiores<sup>41-43</sup>. Henrich *et al.* demonstraram que, comparativamente ao enxerto retirado da crista ilíaca, o aspirado obtido do fêmur com o uso do RIA apresenta maior concentração de células osteoprogenitoras da linhagem CD34+ e de células mesenquimais indiferenciadas<sup>43</sup>.

Em conclusão, os achados do presente experimento sugerem que a propriedade osteogênica do enxerto ósseo autólogo diminui com a idade, caracterizando-se pela redução da população e função celulares e dos canaliculos nutrícios e comunicantes do osso; a propriedade osteocondutora está alterada na população idosa,

uma vez que a capacidade do enxerto em prover suporte estrutural encontra-se reduzida; a atividade osteoformadora, embora diminuída, persiste nos idosos; e que a retirada de enxerto ósseo da crista ilíaca anterior deve ser evitada nos indivíduos idosos, devendo-se pensar em outra fonte doadora.

## ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the histologic and morphometric characteristics of bone biopsies of the anterior iliac crest of patients of different age groups. **Methods:** we studied 30 bone samples from the iliac crest, using brightfield optical microscopy. We divided the samples by donors' age groups in three groups: Group 1 (n = 10), subjects aged between 25 and 39 years; Group 2 (n = 10), subjects aged between 40 and 64 years; Group 3 (n = 10), individuals aged 65 years and over. We randomly divided the samples into two sets with 15 specimens. In the first study segment (n = 15), we used histological to assess the osteogenic property of the graft, through the analysis of cell reserve in the periosteum, the number of osteocytes in the lacunae and the number of Haversian and Volkmann's canals. In the second study segment (n = 15), we investigated the morphology of osteoconductive property of the graft, through quantification of the trabecular meshwork (Vv) and trabecular area (Sv). **Results:** histologically, we observed degeneration of bone occurring with age, characterized by thinning of the periosteum, with gradual replacement of the steogenic layer by fibrous tissue, small amount of Haversian and Volkmann's canals, osteocyte lacunae voids and fine spongy bone trabeculae, allowing ample medullary space, usually occupied by fat cells and adipocytes. Morphologically, with respect to the quantification of the trabecular meshwork (Vv), we found statistically significant differences between Groups 1 and 3 and between Groups 2 and 3, with reduction of the trabecular meshwork of about 45% in the elderly over 65 years old; there was no statistically significant difference between Groups 1 and 2. There was also no statistical difference between the Groups regarding Sv. **Conclusion:** the results of this experiment suggest that, in the elderly (over 65 years old), the osteogenic property of autologous bone graft decreases and the osteoconductive property is compromised.

**Key words:** Bone Development; Bone/biopsy; Bone/anatomy & histology; Bone properties; Ilium; Bone Transplantation

## REFERÊNCIAS

1. Heppenstall RB. Bone grafting in fracture treatment and healing. Philadelphia: W.B. Saunders; 1980.
2. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. Clin Orthop Relat Res. 2000;(371):10-27.
3. Friedlænder GE. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. J Bone Joint Surg Am. 1987;69(5):786-90.
4. Netto HD, Olate S, Klüppel L, do Carmo AM, Vázquez B, Albergaria-Barbosa J. Histometric analyses of cancellous and cortical interface in autogenous bone grafting. Int J Clin Exp Pathol. 2013;6(8):1532-7.
5. Papavero A, Santin RAL. Retirada percutânea de enxerto ósseo autólogo. Rev Bras Ortop. 2003;38(4):213-20.
6. Stevenson S, Arnoczky SP. Transplantation of musculoskeletal tissues. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR, editors. Orthopaedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system. Chicago: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2000. p. 567-79.
7. Almaiman M, Al-Bargi HH, Manson P. Complication of anterior iliac bone graft harvesting in 372 adult patients from may 2006 to may 2011 and a literature review. Craniomaxillofac Trauma Reconstr. 2013;6(4):257-66.
8. 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.
9. Bonfante S, Bosco AF, Luize DS, de Almeida JM, Cesarini TM, Taga R. Influence of nicotine on healing process of autogenous bone block grafts in the mandible: a histomorphometric study in rats. Int J Oral Maxillofac Implants 2008;23(3):437-44.
10. Mendes PHB, Scofano Jr AR, Silva MG, Souza I, Silva Filho NM, Abreu AV, et al. Consolidação da fratura após o uso prolongado de corticóide: estudo experimental em ratos. Rev Bras Ortop. 2001;36(9):345-51.



11. Padula EOC, Andrade ML, Giordano V, Ramalho MV. Aspectos morfológicos do processo de consolidação de fratura em ratos diabéticos. *Rev Bras Ortop.* 2003;38(3):127-36.
12. Bancroft JD, Cook HC. *Manual of histological techniques and their diagnostic application.* New York: Churchill Livingstone; 1994.
13. Tabor Z, Rokita E. Comparison of trabecular bone architecture in young and old bones. *Med Phys.* 2000;27(5):1165-73.
14. Niemcryk SJ, Kraus TJ, Mallory TH. Empirical considerations in orthopaedic research design and data analysis. Part II: the application of data analytic techniques. *J Arthroplasty.* 1990;5(2):105-10.
15. Santner TJ. Fundamentals of statistics for orthopaedists: Part I. *J Bone Joint Surg Am.* 1984;66(3):468-71.
16. Santner TJ, Burstein AH. Fundamentals of statistics for orthopaedists: Part II. *J Bone Joint Surg Am.* 1984;66(5):794-9.
17. Santner TJ, Wypij D. Current concepts review. Fundamentals of statistics for orthopaedists: Part III. *J Bone Joint Surg Am.* 1984;66(8):1309-18.
18. Emara KM, Diab RA, Emara AK. Recent biological trends in management of fracture non-union. *World J Orthop.* 2015;6(8):623-8.
19. Öhman C, Unosson J, Carlsson E, Ginebra MP, Persson C, Engqvist H. Porosity prediction of calcium phosphate cements based on chemical composition. *J Mater Sci Mater Med.* 2015;26(7):210. Epub 2015 Jul 14.
20. Knothe Tate ML. "Whither flows the fluid in bone?" An osteocyte's perspective. *J Biomech.* 2003;36(10):1409-24.
21. Birkenhäger-Frenkel DH, Courpron P, Hüpscher EA, Clermonts E, Coutinho MF, Schmitz PI, et al. Age-related changes in cancellous bone structure. A two-dimensional studying the transiliac and iliac crest biopsy sites. *Bone Miner.* 1988;4(2):197-216.
22. Burkhardt R, Kettner G, Böhm W, Schmidmeier M, Chlag R, Frisch B, et al. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: a comparative histomorphometric study. *Bone.* 1987;8(3):157-64.
23. Kerndrup G, Pallesen G, Melsen F, Mosekilde L. Histomorphometrical determination of bone marrow cellularity in iliac crest biopsies. *Scand J Haematol.* 1980;24(2):110-4.
24. Rehman MT, Hoyland JA, Denton J, Freemont AJ. Age related histomorphometric changes in bone in normal British men and women. *J Clin Pathol.* 1994;47(6):529-34.
25. Wasnich RD. Epidemiology of osteoporosis. In: Favus MJ, Christakos S, Goldring SR, Hendry GN, Holick MF, Kaplan F, et al, editors. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 249-51.
26. World Health Organization. Ageing and life-course [Internet]. Geneva; 2015. [acesso em 2015 dez 01]. Disponível em: <http://www.who.int/hpr/ageing/index.htm>
27. Donahue HJ, Zhou Z, Li Z, McCauley LK. Age-related decreases in stimulatory G protein-coupled adenylate cyclase activity in osteoblastic cells. *Am J Physiol.* 1997;273(4 Pt 1):E776-81.
28. Busse B, Djonic D, Milovanovic P, Hahn M, Püschel K, Ritchie RO, et al. Decrease in the osteocyte lacunar density accompanied by hypermineralized lacunar occlusion reveals failure and delay of remodeling in aged human bone. *Aging Cell.* 2010;9(6):1065-75. Epub 2010 Oct 28.
29. Gabet Y, Bab I. Microarchitectural changes in the aging skeleton. *Curr Osteoporos Rep.* 2011;9(4):177-83.
30. Parfitt AM. Life history of osteocytes: relationship to bone age, bone remodeling, and bone fragility. *J Musculoskelet Neuron Interact* 2002;2(6):499-500.
31. Noble BS, Reeve J. Osteocyte function, osteocyte death and bone fracture resistance. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;159(1-2):7-13.
32. Croucher PI, Garrahan NJ, Compston JE. Assessment of cancellous bone structure: comparison of strut analysis, trabecular bone pattern factor, and marrow space star volume. *J Bone Miner Res.* 1996;11(7):955-61.
33. Genant HK, Gordon C, Jiang Y, Lang TF, Link TM, Majumdar S. Advanced imaging of bone macro and micro structure. *Bone.* 1999;25(1):149-52.

34. Kubik T, Pasowicz M, Tabor Z, Rokita E. Optimizing the assessment of age-related changes in trabecular bone. *Phys Med Biol*. 2002;47(9):1543-53.
35. Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003;35(9):1301-5.
36. Matsubara M, Morita S, Shinomiya K, Kawamata K, Nakamura K, Kashima I. Structuring parameters for assessment of bone quality using a morphological filter and star volume analysis: structuring property in the cancellous bone of the human femoral head. *J Bone Miner Metab*. 2003;21(1):48-56.
37. Saha PK, Gomberg BR, Wehrli FW. Three-dimensional digital topological characterization of cancellous bone architecture. *Int J Imaging Syst Technol*. 2000;11(1):81-90.
38. Smit TH, Schneider E, Odgaard A. Star length distribution: a volume-based concept for the characterization of structural anisotropy. *J Microsc*. 1998;191(3):249-57.
39. Vesterby A. Star volume of marrow space and trabeculae in iliac crest: sampling procedure and correlation to star volume of first lumbar vertebra. *Bone*. 1990;11(3):149-55.
40. Lewiecki EM. Bone density measurement and assessment of fracture risk. *Clin Obstet Gynecol*. 2013;56(4):667-76.
41. Cobbs KF. RIA use in a community orthopedic trauma practice: applying technology, respecting biology. *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S78-84.
42. Giannoudis PV, Suk M, Pape HC. RIA: the journey just started but what the future holds? *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S1-3.
43. Henrich D, Seebach C, Sterlepper E, Tauchmann C, Marzi I, Franck J. RIA reamings and hip aspirate: a comparative evaluation of osteoprogenitor and endothelial progenitor cells. *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S62-8.

Recebido em: 05/04/2016

Aceito para publicação em: 13/07/2016

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: nenhum.

**Endereço para correspondência:**

Vincenzo Giordano

E-mail: v\_giordano@me.com