



# Pseudoartrose atrófica é um termo incorreto? – Um estudo hospitalar transversal prospectivo

## *Is Atrophic Nonunion a Misnomer – A Hospital-based Prospective Cross-Sectional Study*

Sandeep Kumar Chaudhari<sup>1</sup>  Mohit Dhingra<sup>1</sup>  Prashant Joshi<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Departamento de Ortopedia, All India Institute of Medical Sciences, Rishikesh, Índia

Endereço para correspondência Mohit Dhingra, MS Orthopedics, Department of Orthopedics, All India Institute of Medical Sciences, Rishikesh, Índia (e-mail: modisbanu77@gmail.com).

<sup>2</sup> Departamento de Patologia, All India Institute of Medical Sciences, Rishikesh, Índia

Rev Bras Ortop 2022;57(6):1045–1050.

### Resumo

**Objetivo** O presente estudo estimou a proporção de avascularidade histológica das extremidades das fraturas em caso de pseudoartrose de ossos longos.

**Métodos** No total, 15 casos de pseudoartrose quiescente estabelecida foram operados de acordo com o protocolo padrão e as extremidades da fratura foram avaliadas histologicamente. Em resumo, o tecido biopsiado foi fixado em formalina e embebido em parafina (FFPE); secções de 5 microns foram coradas com hematoxilina e eosina de acordo com os protocolos padrões. A imunohistoquímica com anticorpo anti-CD31 (clone JC70A, DBS) foi realizada manualmente segundo protocolos padrões.

**Resultados** Todos os casos de pseudoartrose quiescente foram incluídos; 2 eram de pseudoartrose oligotrófica e 13 eram de pseudoartrose atrófica à radiologia. Destes, 20% eram de pacientes do sexo feminino, 40% de indivíduos entre 31 e 40 anos de idade e todos os casos eram de pseudoartrose atrófica à radiologia. Todos os casos eram positivos para CD-31 à imunohistoquímica. A densidade dos vasos sanguíneos era de categoria I em 13,33% dos casos e de categoria II em 86,67%. Quatro casos apresentavam inflamação branda e dois apresentavam inflamação moderada. O número médio de vasos era de 10 por campo de alta potência na faixa etária de 20 a 30, de 31 a 40 e de 41 a 50 anos. A faixa etária de 61 a 70 anos apresentava, em média, 4 vasos por campo de alta potência. A diferença nos números de vasos em pseudoarthroses oligotróficas e atróficas não foi significativa. Não houve correlação entre a densidade de vasos e a duração da pseudoartrose.

### Palavras-chave

- ▶ antígeno CD31
- ▶ fraturas ósseas
- ▶ fraturas não consolidadas

*O presente estudo foi desenvolvido no Departamento de Ortopedia, All India Institute of Medical Sciences, Rishikesh, Índia*

### recebido

21 de Dezembro de 2021

### aceito

18 de Fevereiro de 2022

### Publicado on-line

Julho 6, 2022

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0042-1746180>.

ISSN 0102-3616.

© 2022. Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. All rights reserved.

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Thieme Revinter Publicações Ltda., Rua do Matoso 170, Rio de Janeiro, RJ, CEP 20270-135, Brazil

## Abstract

**Conclusão** A nomenclatura de classificação da pseudoartrose em atrófica, oligotrófica e hipertrófica precisa ser revista. Nossos achados não indicam que a pseudoartrose atrófica e oligotrófica sejam histologicamente diferentes.

**Objective** The present study was conducted to estimate histologically the proportion of avascularity of fracture ends in case of nonunion of long bones.

**Methods** A total of 15 cases of established quiescent nonunion were operated according to the standard protocol and the fracture ends were evaluated histologically. The biopsied tissue was briefly fixed with formalin, embedded with paraffin (FFPE), and 5-micron sections were stained with hematoxylin and eosin according to standard protocols. Immunohistochemistry with anti-CD31 antibody (JC70A clone, DBS) was performed manually using standard protocols.

**Results** All cases of quiescent nonunion were included; radiologically, 2 cases were oligotrophic, and 13 cases were of atrophic nonunion. A total of 20% of the patients were females, 40% were in the age group between 31 and 40 years old, and, radiologically, all cases were of atrophic nonunion. All cases showed positivity for CD-31 on immunohistochemistry. The blood vessel density was category I in 13.33% of the cases and category II in 86.67% of the cases. Four cases presented with mild inflammation and two presented with moderate inflammation. The average vessel count was 10 per high power field in the age groups between 20 and 30, 31 and 40, and 41 and 50 years old. The age group between 61 and 70 years old showed an average vessel count of 4 per high power field. The difference in the vessel counts of oligotrophic and atrophic nonunion was not significant. No correlation was observed in the density of vessel count and duration of nonunion.

**Conclusion** The nomenclature for the classification of nonunion into atrophic, oligotrophic, and hypertrophic needs revision. Our findings do not support that atrophic and oligotrophic nonunion are histologically different.

## Keywords

- ▶ fractures, ununited
- ▶ fractures, bone
- ▶ antigen, CD31

## Introdução

A literatura tem muitas informações sobre o processo de cicatrização de fraturas.<sup>1</sup> Também há estudos sobre a regulação dos eventos que ocorrem durante a consolidação de fraturas. No entanto, sempre há diferenças de consenso e necessidade de mais pesquisas. A maioria das fraturas cicatriza bem, mas algumas apresentam complicações, como retardo de consolidação e pseudoartrose. As fraturas de membros inferiores representam um terço de todas as fraturas e têm morbidade significativa se associadas a lesões abertas e tratamento tardio.<sup>2</sup> Uma das principais morbidades associadas a estas fraturas é a pseudoartrose, responsável por de 5 a 10% de todas as fraturas.<sup>3</sup> A pseudoartrose é descrita como a interrupção de qualquer cicatrização radiológica adicional em 3 radiografias consecutivas obtidas com 1 mês de intervalo.<sup>4</sup>

Estas pseudoartroses são descritas como:

- Infectadas ou não, dependendo da presença de infecção nas extremidades da fratura;
- Rígidas ou móveis, dependendo da presença de movimento no sítio de fratura;<sup>5</sup>
- Hipertróficas, oligotróficas e atróficas, dependendo da atividade biológica observada à radiologia.<sup>6</sup>

A avaliação da atividade biológica tem sido predominantemente baseada em parâmetros radiológicos e é realizada há muito tempo. É comum acreditar que a pseudoartrose hipertrófica à radiografia é biologicamente ativa e que a estabilização óssea é suficiente para a cicatrização. Por outro lado, a pseudoartrose atrófica é considerada avascular, acelular e sem capacidade inerente de cicatrização em um ambiente estável e correto.<sup>6</sup> A estabilidade e a vascularidade das extremidades da lesão são fatores importantes para a formação do calo em ossos fraturados em oposição.<sup>7</sup> Embora a interrupção inicial do suprimento sanguíneo possa ser a causa da pseudoartrose, a avascularização persistente pode não ser um fator constante associado a ela.

O objetivo do presente estudo é investigar a histologia e a incidência de vascularização das extremidades das fraturas de várias pseudoartroses.

## Materiais e Métodos

O presente estudo foi conduzido após a aprovação pelo comitê institucional de ética.

Somente pacientes com fraturas expostas e perda óssea por traumatismos de alta velocidade, como acidentes de

trânsito, quedas de altura e ferimentos por arma de fogo, com infecção em algum momento, mas agora cicatrizadas e quiescentes (sem abscessos) foram incluídos no presente estudo.<sup>8</sup>

Os critérios de elegibilidade foram pacientes com esqueletos maduros que apresentavam pseudoartrose quiescente (sem abscessos) de ossos longos. Todos os pacientes com suspeita de fratura patológica, pseudoartrose em ossos longos acompanhada por abscessos e pacientes pediátricos foram excluídos do presente estudo.

**Metodologia:** todos os pacientes que atenderam aos critérios de inclusão foram informados sobre a metodologia do presente estudo; todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes foram submetidos a anamnese, exame clínico e exame radiológico. A pseudoartrose de ossos longos foi classificada de acordo com os achados radiográficos por dois ortopedistas independentes. A classificação foi baseada na morfologia das extremidades da fratura e na quantidade de formação de calo.<sup>9</sup> Uma amostra de biópsia foi coletada do sítio de pseudoartrose durante a cirurgia (► **Figura 1**).

**Exame histológico:** a amostra de biópsia retirada do sítio de pseudoartrose foi fixada com formol tamponado a 10%, embebida em parafina, seccionada e corada com hematoxilina e eosina (H&E). Estes cortes corados com H&E foram analisados à microscopia óptica quanto à morfologia geral e características do tecido. A imunohistoquímica com CD31 foi empregada para destacar a vasculatura (► **Figura 2**).

O infiltrado inflamatório composto por linfócitos e neutrófilos foi classificado como:

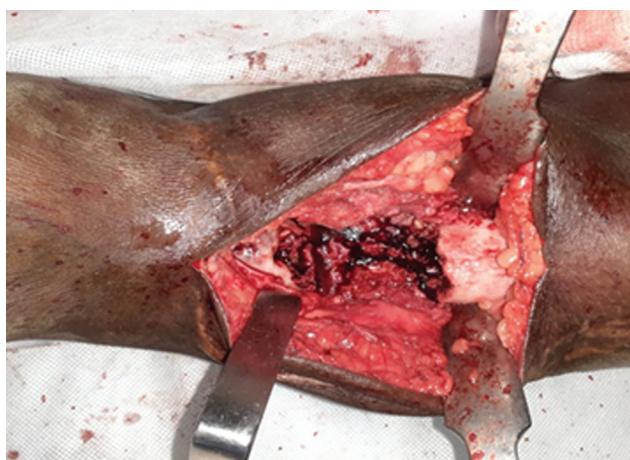
Brando: células inflamatórias em < 33% da área do corte de tecido

Moderado: células inflamatórias em 33 a 66% da área do corte de tecido

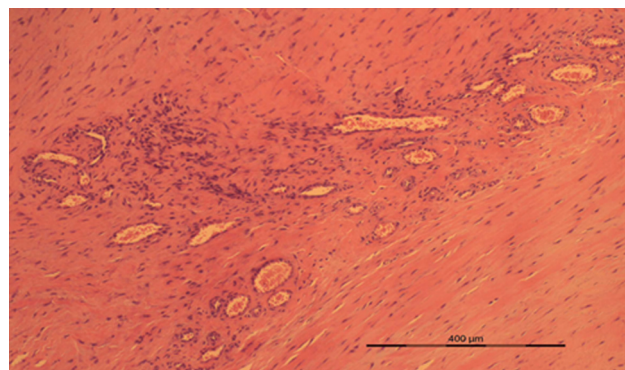
Grave: células inflamatórias em > 66% da área do corte de tecido

A distribuição de vasos sanguíneos foi classificada de forma semiquantitativa em aumento de 100x da seguinte maneira:<sup>10</sup>

Categoria 0: ausência de vasos sanguíneos com coloração positiva



**Fig. 1** Sítio de pseudoartrose atrófica (imagem intraoperatória).



**Fig. 2** Amostra histopatológica de um paciente com pseudoartrose atrófica à radiologia mostrando a densidade de vasos sanguíneos (categoria 2) em aumento de 400x.

Categoria 1: vasos sanguíneos em 1 a 50% do campo

Categoria 2: vasos sanguíneos em > 50% do campo

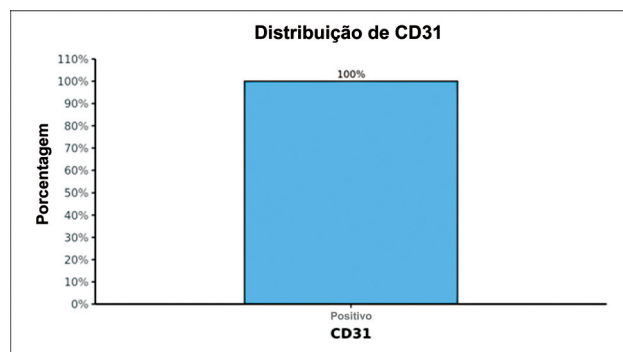
A densidade de vasos sanguíneos foi quantificada conforme a média de 3 campos não contíguos em aumento de 400x com o maior número de vasos sanguíneos. Cada campo em aumento de 400x no modelo de microscópio utilizado corresponde a 0,55 mm<sup>2</sup>.<sup>10</sup>

## Resultados com Análise Estatística

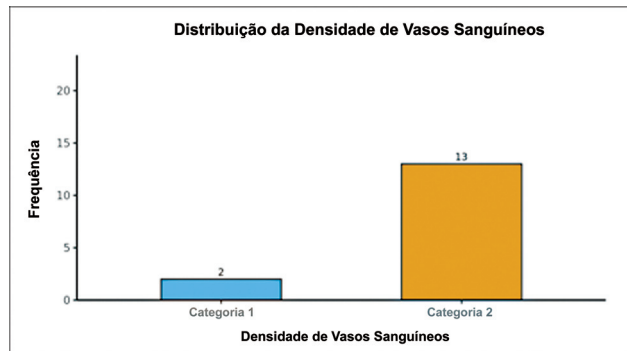
Em nossa série de 15 casos, a média de idade dos pacientes foi de 40,60 ± 12,99 anos. A maioria dos pacientes tinha de 31 a 40 anos (40%). Doze eram homens e 3 eram mulheres. Os casos de pseudoartrose eram na tíbia (66,7%), no fêmur (13,3%), nos ossos do antebraço (13,3%) e no úmero (6,7%). Treze casos eram atróficos e 2 eram oligotróficos.

A duração da pseudoartrose variou de 16,87 ± 6,59 meses. Todos os casos eram positivos para CD31 (100%) (► **Figura 3**). O número médio de vasos foi de 9,27 ± 4,28. Dois casos tinham densidade de vasos sanguíneos de categoria 1 e o restante estava na categoria 2 (► **Figura 4**). A maioria dos casos não apresentava inflamação (60%), mas havia inflamação branda em 4 casos (► **Tabela 1**).

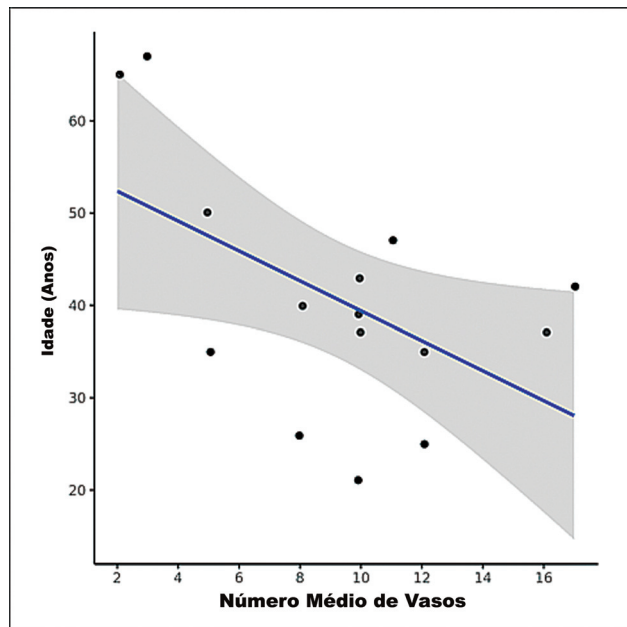
Houve uma correlação negativa moderada entre o número médio de vasos e a idade (anos), mas esta correlação não foi



**Fig. 3** Distribuição dos participantes em termos de CD31 (n = 15). 100,0% dos participantes eram CD31-positivos e 0,0% dos participantes eram CD31-negativos. Distribution of CD31 = Distribuição de CD31, Percentage = Porcentagem, Positive = Positivo



**Fig. 4** Distribuição dos participantes em termos de densidade de vasos sanguíneos ( $n = 15$ ). Distribution of Blood Vessel Density = Distribuição da Densidade de Vasos Sanguíneos, Frequency = Frequência, Category 1 = Categoria 1, Category 2 = Categoria 2, Blood Vessel Density = Densidade de Vasos Sanguíneos



**Fig. 5** Correlação entre o número médio de vasos e a idade (anos) ( $n = 15$ ). O gráfico de dispersão acima mostra a correlação entre o número médio de vasos e a idade (anos). Os pontos individuais representam casos. A linha azul representa a tendência geral de correlação entre as duas variáveis. A área acinzentada representa o intervalo de confiança de 95% desta linha. Age (Years) = Idade (Anos), Average Vessel Count = Número Médio de Vasos

estatisticamente significativa ( $\rho = -0,4$ ;  $p = 0,145$ ) (►Figura 5 e ►Tabela 2).

Houve uma pequena correlação negativa entre a duração da pseudoartrose (meses) e a idade (anos), mas sem significância estatística ( $\rho = -0,11$ ;  $p = 0,691$ ) (►Figura 6 e ►Tabela 3).

Ao correlacionar as características radiológicas e histológicas do tipo de pseudoartrose, verificou-se que todos os casos atróficos à radiologia eram hipertróficos à histologia. Estes casos apresentavam bom número e densidade de vasos. Os dois casos que eram oligotróficos à radiografia eram oligotróficos à histologia (►Figura 7).

**Tabela 1** Detalhes de todos os pacientes e parâmetros relacionados

Todos os parâmetros	Média $\pm$ DP    Mediana (IQR)    Min-Máx    Frequência (%)
Idade (anos)	40,60 $\pm$ 12,99    39,00 (35,00–45,00)    21,00–67,00
Idade	
21 a 30	3 (20,0%)
31 a 40	6 (40,0%)
41 a 50	4 (26,7%)
61 a 70	2 (13,3%)
Gênero	
Masculino	12 (80,0%)
Feminino	3 (20,0%)
Sítio de pseudoartrose	
Tíbia	10 (66,7%)
Fêmur	2 (13,3%)
Rádio/Ulna	2 (13,3%)
Úmero	1 (6,7%)
Tipo de pseudoartrose	
Atrófica	13 (86,7%)
Oligotrófica	2 (13,3%)
Duração da pseudoartrose (meses)	16,87 $\pm$ 6,59    16,00 (11,50–19,50)    9,00–33,00
CD31 (positivo)	15 (100,0%)
Densidade de vasos sanguíneos	
Categoria 1	2 (13,3%)
Categoria 2	13 (86,7%)
Número médio de vasos	9,27 $\pm$ 4,28    10,00 (6,50–11,50)    2,00–17,00
Inflamação	
Ausente	9 (60,0%)
Branda	4 (26,7%)
Moderada	2 (13,3%)

Abreviações: DP, desvio padrão; IQR, intervalo interquartil; Máx, máximo; Mín, mínimo.

A variável “duração da pseudoartrose (meses)” apresentou distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk:  $p = 0,157$ ).

## Discussão

A pseudoartrose de ossos longos após fraturas é uma complicação comum, em especial quando associada a lesões abertas e perda óssea, com alta morbidade e importância clínica. O conselho da Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA, na sigla em inglês) dos Estados Unidos define a pseudoartrose como a “ausência de cicatrização em

**Tabela 2** Correlação entre o número de vasos sanguíneos e a idade dos pacientes

Correlação	Coefficiente de correlação de Spearman	valor-p
Número médio de vasos versus idade (anos)	-0,4	0,145

Testes não paramétricos (correlação de Spearman) exploraram a correlação entre as duas variáveis, já que pelo menos uma delas não apresentava distribuição normal.

Houve uma correlação negativa moderada entre o número médio de vasos sanguíneos e a idade (anos), mas sem significância estatística ( $\rho = -0,4; p = 0,145$ ).

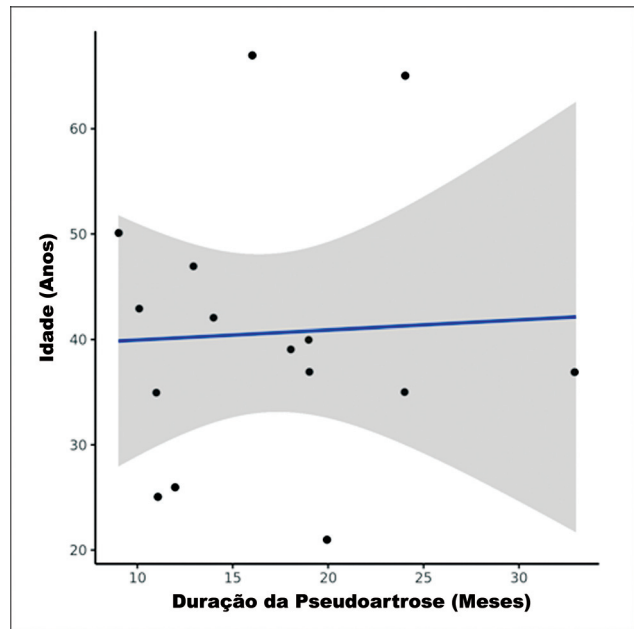
**Tabela 3** Correlação entre a duração da pseudoartrose e a idade do paciente

Correlação	Coefficiente de correlação de Spearman	valor-p
Duração da pseudoartrose (meses) versus idade (anos)	-0,1	0,691

Testes não paramétricos (correlação de Spearman) exploraram a correlação entre as duas variáveis, já que pelo menos uma delas não apresentava distribuição normal.

Houve uma pequena correlação negativa entre a duração da pseudoartrose (meses) e a idade (anos), mas sem significância estatística ( $\rho = -0,11; p = 0,691$ ).

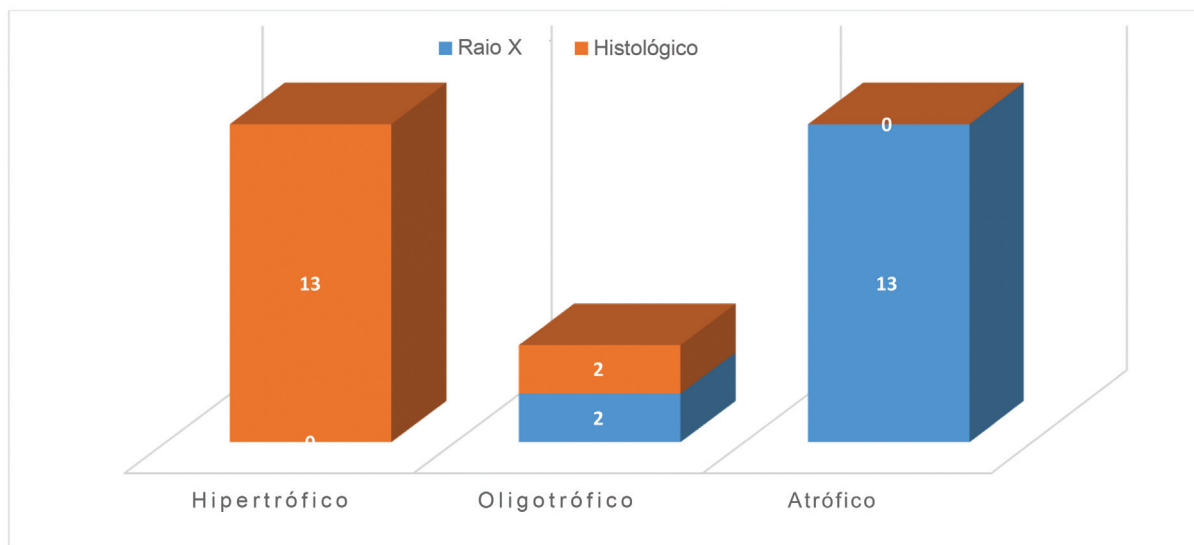
9 meses desde a lesão e ausência de sinais clínicos e radiológicos de cicatrização por 3 meses consecutivos”.<sup>11</sup> A radiologia é tradicionalmente utilizada para avaliação da atividade biológica no sítio de pseudoartrose e seus achados baseiam a classificação da lesão como pseudoartrófica, oligotrófica e atrófica. É comum acreditar que as pseudoartro-



**Fig. 6** Correlação entre a duração da pseudoartrose (meses) e a idade (anos) ( $n = 15$ ). Age (Years) = Idade (Anos), Duration of Non-Union (Months) = Duração da Pseudoartrose (Meses). O gráfico de dispersão abaixo mostra a correlação entre a duração da pseudoartrose (meses) e a idade (anos). Os pontos individuais representam casos. A linha azul representa a tendência geral de correlação entre as duas variáveis. A área acinzentada representa o intervalo de confiança de 95% desta linha.

ses hipertróficas são biologicamente ativas e vasculares e podem sofrer consolidação em ambiente estável e correto. Por outro lado, as pseudoartroses atróficas são consideradas relativamente avasculares, acelulares e inertes e têm menor potencial de cicatrização mesmo em ambiente estável e correto.<sup>7,12</sup>

Como as pesquisas passaram de anatômicas a moleculares, o presente estudo foi realizado para definir as



**Fig. 7** Comparação das pseudoartroses (radiológica versus histológica).

características moleculares do sítio de pseudoartrose e sua correlação com parâmetros radiológicos e anatômicos.

O presente estudo incluiu 15 pacientes com pseudoartrose quiescente com consolidação clínica. Os pacientes tinham, em média,  $40,60 \pm 12,99$  anos. Doze (80,0%) participantes eram do sexo masculino e 3 (20,0%) do sexo feminino. Um estudo anterior semelhante feito por Reed et al.<sup>12</sup> incluiu 22 pacientes com média de idade de 47,18 anos, sendo 17 do sexo masculino e 5 do sexo feminino. Em outro estudo in vitro de Vallim et al.,<sup>13</sup> 15 pacientes com média de idade de 46,4 anos com pseudoartrose atrófica foram incluídos. Destes, nove eram homens e seis eram mulheres.

Observamos 13 (86,7%) casos de pseudoartrose atrófica e 2 (13,3%) casos de pseudoartrose oligotrófica segundo a classificação radiológica. A duração média da pseudoartrose (em meses) foi de  $16,87 \pm 6,59$ . No estudo de Reed et al.,<sup>12</sup> dos 22 pacientes, 11 apresentavam pseudoartrose hipertrófica (tempo médio após a fratura de 21 meses) e 11 apresentavam pseudoartrose atrófica (tempo médio após fratura de 24 meses). O estudo de Vallim et al.<sup>13</sup> incluiu apenas casos de pseudoartrose atrófica.

No nosso estudo, todos os 15 (100,0%) pacientes eram CD31-positivos à histologia. O número médio de vasos foi de  $9,27 \pm 4,28$ . Nove participantes não apresentavam inflamação; em 4 (26,7%), a inflamação era branda e, em 2 (13,3%), moderada. Em outro estudo de Reed et al.,<sup>12</sup> todos os casos corados para CD31 foram positivos e não apresentaram diferenças histológicas, mas a densidade de vasos foi diferente conforme o tipo de pseudoartrose, embora não de forma significativa. ( $p > 0,05$ ). O estudo de Brownlow et al.,<sup>14</sup> feito em coelhos, relatou uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e experimental após a eutanásia em 1 semana, mas, ao final de 8 e 16 semanas, não havia diferença significativa na densidade de vasos no sítio de pseudoartrose de ambos os grupos. Outro estudo in vitro de Vallim et al.<sup>13</sup> sobre células do estroma de pseudoartroses atróficas (NUSCs, na sigla em inglês) mostrou que estas células, assim como células do estroma da medula óssea (BMSCs, na sigla em inglês) e osteoblastos, necessitavam do mesmo tempo para duplicar em número (média de  $7,8 \pm 3,8$  dias,  $5,4 \pm 1,8$  dias e  $9,0 \pm 5,1$  dias, respectivamente), sem diferença estatisticamente significativa entre elas. Além disso, a atividade de b-galactosidase em culturas de NUSCs foi semelhante àquela observada em BMSCs e osteoblastos, sugerindo que NUSCs poderiam se proliferar na mesma extensão que BMSCs e osteoblastos.

## Conclusão

A distinção radiológica de pseudoartroses em atróficas, oligotróficas e hipertróficas é feita há muito tempo. No

entanto, não há muita diferença histológica entre as pseudoartroses atróficas e oligotróficas em termos de densidade e atividade vascular. A pseudoartrose atrófica não é, como o nome sugere, hipovascular ou avascular, pois ainda pode formar novo osso na presença de estabilização adequada e fatores quimiotáticos.

### Suporte Financeiro

O presente estudo não recebeu financiamento de qualquer agência.

### Conflito de Interesses

Os autores não têm nenhum conflito de interesses a declarar.

## Referências

- 1 Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998; (355, Suppl):S7–S21
- 2 Kaye JA, Jick H. Epidemiology of lower limb fractures in general practice in the United Kingdom. *Inj Prev* 2004;10(06):368–374
- 3 Mills LA, Simpson AHRW. The relative incidence of fracture non-union in the Scottish population (5.17 million): a 5-year epidemiological study. *BMJ Open* 2013;3(02):e002276
- 4 Green SA, Moore TA, Spohn PJ. Nonunion of the tibial shaft. *Orthopedics* 1988;11(08):1149–1157
- 5 Paley D, Catagni MA, Argnani F, Villa A, Benedetti GB, Cattaneo R. Ilizarov treatment of tibial nonunions with bone loss. *Clin Orthop Relat Res* 1989;(241):146–165
- 6 Thomas JD, Kehoe JL. Bone Nonunion. [Updated 2021 Mar 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554385/>
- 7 Manual of Internal Fixation - Techniques Recommended by the AO-ASIF Group | Maurice E. Müller | Springer [Internet]. [cited 2021 Aug 18]. Available from: <https://www.springer.com/gp/book/9783642080913>
- 8 Rhinelander FW. Tibial blood supply in relation to fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1974;(105):34–81
- 9 Megas P. Classification of non-union [published correction appears in *Injury*. 2006 Sep;37(9):927. Panagiotis, Megas [corrected to Megas, Panagiotis]]. *Injury* 2005;36(Suppl 4):S30–S37
- 10 Skeletal Trauma: Basic Science, Management, and Reconstruction, 2-Volume Set - 6th Edition [Internet]. [cited 2021 Aug 18]. Available from: <https://www.elsevier.com/books/skeletal-trauma-basic-science-management-and-reconstruction-2-volume-set/browner/978-0-323-61114-5>
- 11 Cunningham BP, Brazina S, Morshed S, Miclau T 3rd. Fracture healing: A review of clinical, imaging and laboratory diagnostic options. *Injury* 2017;48(Suppl 1):S69–S75
- 12 Reed AA, Joyner CJ, Brownlow HC, Simpson AH. Human atrophic fracture non-unions are not avascular. *J Orthop Res* 2002;20(03):593–599
- 13 Vallim FC, Guimarães JAM, Dias RB, et al. Atrophic nonunion stromal cells form bone and recreate the bone marrow environment in vivo. *OTA Int* 2018;1(03):e008
- 14 Brownlow HC, Reed A, Simpson AHRW. The vascularity of atrophic non-unions. *Injury* 2002;33(02):145–150