

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 14/07/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**TÉCNICA DE MASQUELET EM DEFEITO ÓSSEO
SEGMENTAR DO RÁDIO EM COELHOS COM EMPREGO
DO BIOVIDRO BIOATIVO F18**

JOSÉ IVALDO DE SIQUEIRA SILVA JÚNIOR

Botucatu – SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**TÉCNICA DE MASQUELET EM DEFEITO ÓSSEO
SEGMENTAR DO RÁDIO EM COELHOS COM EMPREGO
DO BIOVIDRO BIOATIVO F18**

JOSÉ IVALDO DE SIQUEIRA SILVA JÚNIOR

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia Animal.

Orientadora: Prof.^a Titular Sheila Canevese Rahal
Coorientadora: Prof.^a Dra. Marina Trevelin de Souza

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Silva Júnior, José Ivaldo de Siqueira.

Técnica de *masquelet* em defeito ósseo segmentar do rádio em coelhos com emprego do biovidro bioativo F18 / José Ivaldo de Siqueira Silva Júnior. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Sheila Canevese Rahal

Coorientador: Marina Trevelin de Souza

Capes: 50501003

1. Materiais biomedicos. 2. Cirurgia ortopédica.
3. Histologia. 4. Consolidação da Fratura.

Palavras-chave: Biomaterial; Defeito ósseo; Histologia; Membrana induzida.

Nome do autor: José Ivaldo de Siqueira Silva Júnior

TÉCNICA DE MASQUELET EM DEFEITO ÓSSEO SEGMENTAR DO RÁDIO EM
COELHOS COM EMPREGO DO BIOVIDRO BIOATIVO F18

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Titular Sheila Canevese Rahal

Presidente da banca e orientadora

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Luciane dos Reis Mesquita

Membro interno

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Fátima Maria Caetano Caldeira

Membro interno

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Neuza de Barros Marques

Membro externo

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE - RECIFE

Profa. Dra. Renata Neves Granito

Membro externo

Instituto de Saúde e Sociedade - Departamento de Biociências

Campus Baixada Santista

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos; no. 01.12.0530.00).

À VETRA, em nome da Profa. Dra. Marina Trevelin Souza.

A Deus.

Aos meus pais e irmãos, assim como, a todos da minha família pelo apoio e suporte.

Aos meus queridos amigos que sempre me apoiam nas decisões.

À Professora Titular Sheila Canevese Rahal pela orientação e a toda equipe do nosso grupo de pesquisa de cirurgia de pequenos animais.

À Banca avaliadora.

Ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu pela grande oportunidade.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELA.....	viii
Resumo	ix
Abstract	x
CAPÍTULO 1	13
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3 REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 2	31
Artigo científico	32

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1. Biovidro F18 em material moldável, ou seja, esfera na forma de “putty”	23
---	----

Capítulo 2

Figura 2. Falha óssea segmentar de 1,0 cm de comprimento no terço médio-proximal do rádio de coelho. (A) Secções ósseas, com inclusão do periósteo. (B) Falha óssea segmentar de 1 cm de comprimento.....	36
--	----

Figura 3. (A) Aplicação de “putty de biovidro F18 na falha óssea segmentar de 1,0 cm de comprimento no terço médio-proximal do rádio de coelho. (B) Biovidro F18 moldado em tamanho e formato similar ao fragmento ósseo removido.....	37
---	----

Figura 4. Imagens radiográficas do membro torácico direito de coelhos do Grupo 1 (a,b) e Grupo 2 (c,d), nas projeções mediolateral (a,c) e craniocaudal (b,d), no momento pós-operatório imediato. Note o “putty” de biovidro F18 ocupando a falha óssea segmentar do rádio (setas), como estrutura radiopaca.....	41
---	----

Figura 5. Imagens radiográficas do membro torácico direito de coelhos, nas projeções mediolateral (a,c) e craniocaudal (b,d), aos 21 dias de pós-operatório (a,b) e aos 42 dias de pós-operatório (c,d). Note a dispersão de partículas de biovidro F18 na região de falha segmentar (setas).....	41
--	----

Figura 6. Aspectos macroscópicos da membrana induzida pela técnica de Masquelet com biovidro F18 em falha óssea segmentar do rádio em coelhos aos 21 dias de pós-operatório (Grupo 1). (A) Exposição do tecido formado na região de falha segmentar. (B) Membrana induzida sem demais tecidos adjacentes. (C) Tamanho da membrana induzida após coleta.....	42
--	----

Figura 7. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos aos 21 dias de pós-operatório. **(A)** Proliferação de tecido fibrocolagenoso com destaque as áreas com partículas vítreas do biovidro F18 (asteriscos). HE, Obj.5x. **(B).** Proliferação de tecido fibrocolagenoso acentuado, desorganizado e acentuadamente vascularizado (setas), infiltrado inflamatório (estrela) englobando áreas contendo biovidro F18 (asteriscos). HE, Obj.20x..... 43

Figura 8. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos aos 21 dias de pós-operatório. **(A)** Composição tecidual predominantemente de tecido fibrocolagenoso desorganizado, associado ao infiltrado inflamatório intenso (estrela), com áreas focais de cartilagem (asteriscos) e presença de células gigantes multinucleadas (seta). HE, Obj.20x. **(B).** Maior aumento com destaque a área focal de cartilagem (asteriscos), infiltrado inflamatório intenso (estrela) e destaque de célula gigante multinucleada (seta). HE, Obj.40x..... 44

Figura 9. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos aos 21 dias de pós-operatório. **(A)** Presença de matriz condroide acentuada (estrela) e matriz osteoide (asteriscos) em processo inicial de organização; presença de tecido fibrocolagenoso e intenso infiltrado inflamatório (setas). HE, Obj.5x. **(B).** Maior aumento evidenciando área de transição entre matriz condroide (estrelas) e matriz osteoide (asterisco). HE, Obj.20x..... 44

Figura 10. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos aos 42 dias de pós-operatório. **(A)** Proliferação de tecido fibrocolagenoso com destaque as áreas com partículas vítreas do biovidro F18 (asteriscos). HE, Obj.5x. **(B).** Proliferação de tecido fibrocolagenoso acentuado, desorganizado e infiltrado inflamatório (estrela) englobando áreas contendo biovidro F18 (asteriscos). HE, Obj.20x..... 45

Figura 11. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar radial em coelhos aos 42 dias de pós-operatório. **(A)** Proliferação de tecido fibrocolagenoso com discreto infiltrado inflamatório composto por macrófagos (asteriscos), matriz osteoide bem organizada (estrelas) e áreas com resquícios das partículas vítreas (setas). HE, Obj.40x. **(B).** Proliferação de matriz osteoide acentuada e bem organizada (estrelas), presença de tecido fibrocolagenoso frouxo (asteriscos). HE, Obj.20x..... 46

Figura 12. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar radial em coelhos aos 42 dias de pós-operatório. **(A)** Proliferação de tecido fibrocolagenoso com discreto infiltrado inflamatório composto por macrófagos (asteriscos), matriz osteoide em organização moderada entremeada ao tecido frouxo desorganizado (estrela). HE, Obj.40x. **(B).** Proliferação de matriz cartilaginosa acentuada (asteriscos) em processo de organização osteoide (estrelas). HE, Obj.20x..... 46

Figura 13. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos, aos 21 dias de pós-operatório, corada pela técnica de Tricômio de Masson. **(A)** Fibras colagenosas focais coradas em azul entremeada ao tecido fibroso (estrela), presença de partículas vítreas (asteriscos). TM, Obj.20x. **(B)**. Maior aumento evidenciando proliferação de matriz colagenosa difusa desorganizada (estrela). TM, Obj.40x..... 49

Figura 14. Aspecto microscópico da membrana induzida em falha segmentar do rádio em coelhos, aos 42 dias de pós-operatório, corada pela técnica de Tricômio de Masson. **(A)** Áreas de matriz condroide marcada difusamente (estrela). TM, Obj.20x. **(B)**. Maior aumento evidenciando proliferação de matriz condroide e matriz osteoide bem organizada (estrela). TM, Obj.40x..... 49

Lista de Tabelas

Tabela 1. Avaliação histológica semiquantitativa (HE) da composição tecidual e infiltrado inflamatório das membranas induzidas, quanto à proliferação de tecido fibrocolagenoso, tecido mixoide, áreas multifocais de cartilagem, presença de macrófagos, linfócitos e eosinófilos, em defeitos ósseos segmentares do rádio de coelhas adultas, preenchidos com biovidro F18 (Grupo 1), aos 21 dias de pós-operatório..... 45

Tabela 2. Avaliação histológica semiquantitativa (HE) da composição tecidual e infiltrado inflamatório das membranas induzidas, quanto à proliferação de tecido fibrocolagenoso, tecido mixoide, áreas multifocais de cartilagem, presença de macrófagos, linfócitos e eosinófilos, em defeitos ósseos segmentares do rádio de coelhas adultas, preenchidos com biovidro F18 (Grupo 2), aos 42 dias de pós-operatório..... 47

Tabela 3. Avaliação histológica semiquantitativa (HE) da presença de vascularização, em defeitos ósseos segmentares do rádio de coelhas adultas, preenchidos com biovidro F18 aos 21 dias de pós-operatório (Grupo 1) e aos 42 dias de pós-operatório (Grupo 2) 47

Tabela 4. Avaliação histológica semiquantitativa (HE) da presença de células gigantes multinucleadas, em defeitos ósseos segmentares do rádio de coelhas adultas, preenchidos com biovidro F18 aos 21 dias de pós-operatório (Grupo 1) e aos 42 dias de pós-operatório (Grupo 2) 48

SILVA JÚNIOR, JIS. Técnica de masquetelet em defeito ósseo segmentar do rádio em coelhos com emprego do biovidro bioativo F18. Botucatu, 2023. 54p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a capacidade do Biovidro F18, como um substituto do cimento ósseo no desenvolvimento da membrana induzida pela técnica de Masquetelet em defeito ósseo segmentar do rádio, tendo o coelho como modelo experimental. Foram empregados 10 coelhos adultos, fêmeas, da raça Norfolk, com massa corporal média de 4 kg. Os animais foram divididos por ensaio randomizado em dois grupos de cinco indivíduos, conforme os momentos de observação no período pós-operatório (Grupo 1 = 21 dias, Grupo 2 = 42 dias). Promoveu-se falha óssea segmentar (1,0 cm de comprimento) no rádio, direito e esquerdo, a qual foi preenchida com “putty” de biovidro F18. Pelo exame radiográfico, o biomaterial mostrou-se no pós-operatório imediato como uma estrutura radiopaca bem delimitada, com densidade próxima ao tecido ósseo. Aos 21 e 42 dias de pós-operatório notou-se redução da radiopacidade e do volume visibilizado do biomaterial, com dispersão de partículas na região de falha segmentar. Pela análise histológica, a membrana induzida foi verificada em todos os animais, sendo composta predominantemente de tecido fibrocolagenoso; matrizes condroides e osteoide em processo de regeneração; densamente vascularizada; e com presença de reação tipo corpo estranho, composta por macrófagos e células gigantes multinucleadas. Conclui-se que o biovidro F18 mostrou resposta inflamatória do tipo corpo estranho, com desenvolvimento de membrana induzida sem capacidade de expansão para realização do segundo estágio da técnica de Masquetelet.

Palavras-chave: Defeito ósseo, membrana induzida, biomaterial, histologia.

SILVA JÚNIOR, JIS. Masquelet technique in segmental bone defect of the radius in rabbits using F18 bioactive glass. Botucatu, 2023. 55p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate F18 bioglass capacity as a substitute for bone cement in the membrane-induced development by the Masquelet technique in segmental bone defect of the radius, using the rabbit as an experimental model. Ten adult female Norfolk rabbits with a body mass of 4 kg were used. The animals were randomly divided into two groups of five, according to the postoperative time points (Group 1 = 21 days, Group 2 = 42 days). A segmental bone gap (1.0 cm length) was created on the right and left radii and filled with F18 bioglass putty. On radiographic examination, the biomaterial appeared in the immediate postoperative period as a well-defined radiopaque structure with a density close to bone tissue. At 21 and 42 days after surgery, a reduction in radiopacity and volume of the biomaterial was observed, with particle dispersion in the segmental bone defect region. By histological analysis, the induced membrane was verified in all animals, being predominantly composed of fibro-collagenous tissue; chondroid and osteoid matrices undergoing regeneration; densely vascularized; and with the presence of a foreign body type reaction, composed of macrophages and multinucleated giant cells. In conclusion, the F18 bioglass caused a foreign body-type inflammatory response with induced membrane development without expansion capacity to perform the second stage of the Masquelet technique.

Keywords: Bone defect, induced membrane, biomaterial, histology.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A restauração anatômica de defeitos ósseos de grandes proporções e dos diversos tipos de não-uniões ósseas tem se apresentado como um desafio constante na ortopedia (BRINKER, 2003; VIATEAU, 2010; KLEIN et al., 2020). Neste sentido, diversos modelos de reconstrução óssea têm sido propostos para sanar esse desafio, visando principalmente a manutenção anatômica e funcional de estruturas ósseas dos pacientes (BRINKER, 2003; KLEIN et al., 2020). Especificamente para progressão da consolidação de grandes defeitos ósseos recomenda-se cirurgicamente como padrão a utilização do enxerto esponjoso autólogo, devido a sua capacidade de baixa rejeição pelo organismo, aliada a ótimas características de osteocondução e promoção da implantação direta de células vivas e fatores de crescimento promotores da regeneração osteogênica (BRINKER, 2003; GIANNOUDIS et al., 2005; DURAND et al., 2019). Tendo em vista a necessidade de otimizar a consolidação e a manutenção do material na região de enxertia diversas formas de realizar essa contenção têm sido propostas ou empregadas, tais como os tecidos descelularizados (VERBOKET et al., 2020) e a produção de membranas induzidas (membrana de Masquelet) (MASQUELET et al., 2000; MASQUELET, 2003; MASQUELET e BEGUE, 2010; KLEIN et al., 2020).

A técnica cirúrgica para indução da membrana de Masquelet consiste em um procedimento formado por dois estágios (MASQUELET e BEGUE, 2010), no qual em ambos existe a necessidade de imobilização do local alvo por fixadores internos ou externos (DURAND et al., 2019; KLEIN et al., 2020). A membrana induzida pela técnica de Masquelet permite a contenção do enxerto durante o segundo estágio cirúrgico, além da manutenção de características ótimas de vascularização e osteocondução (MASQUELET, 2000; MASQUELET e BEGUE, 2010).

Embora esta técnica de reparo ósseo tenha sido amplamente utilizada e seus efeitos positivos para a consolidação óssea sejam conhecidos, ela ainda apresenta limitações importantes quando observado o paciente e suas características individuais, principalmente nos quesitos de tempo cirúrgico (dois procedimentos), necessidade de reintervenções para tratamentos de infecções crônicas, uso prolongado de antibióticos e também falhas no processo (não-união)

(KARGER et al., 2012; AURÉGAN et al., 2016; MORELLI et al., 2016; HAN et al. 2017; DURAND et al., 2019).

Para que estas limitações da técnica de Masquelet sejam contornadas ou até mesmo modificadas, trazendo benefícios clínicos aos pacientes, novos produtos tecnológicos utilizando materiais com propriedades bioativas devem ser implementados. Considerando o exposto acima, o presente estudo visa avaliar a ação de um biomaterial bioativo (Biovidro F18), no desenvolvimento da membrana induzida pela técnica de Masquelet em modelo de coelhos. Um fator de relevância adicional é que não existem estudos relacionados a avaliação do uso deste biomaterial no protocolo de aquisição da membrana por tal técnica. Para tanto, foram constituídos dois capítulos: o primeiro referente à introdução e revisão da literatura e o segundo relativo ao artigo científico.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o biovidro F18 mostrou resposta inflamatória do tipo corpo estranho, com desenvolvimento de membrana induzida sem capacidade de expansão para realização do segundo estágio da técnica de Masquelet.

REFERÊNCIAS (modelo AMA)

Careri S, Vitiello R, Oliva MS, Ziranu A, Maccauro G, Perisano C. Masquelet technique and osteomyelitis: innovations and literature review. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23(2 Suppl):210-216.

Cavalu S. Acrylic bone cements: new insight and future perspective. Key Eng Mater. 2017;745:39-49.

Coris JGF, Rahal SC, Fonseca-Alves CE, Mamprim MJ, Inamassu LR, Sampaio ABA, Kano WT, Mesquita LDR, Silva Junior JIS. Effect of low-level laser therapy on

the membrane induced by the Masquelet technique at an orthotopic site in rabbits. *Acta Cir Bras.* 2021;36(10):e361003.

Durand M, Collombet J-M, Mathieu L. Masquelet induced membrane technique for the surgical treatment of large bone defects: the reasons for successes and failures. *Am J Biomed Sci & Res.* 2019; 2(4):166-169.

Gabbai-Armelin PR, Souza MT, Kido HW, Tim CR, Bossini PS, Magri AM, Fernandes KR, Pastor FA, Zanotto ED, Parizotto NA, Peitl O, Renno AC. Effect of a new bioactive fibrous glassy scaffold on bone repair. *J Mater Sci Mater Med.* 2015;26(5):177.

Giannoudis PV, Faour O, Goff T, Kanakaris N, Dimitriou R. Masquelet technique for the treatment of bone defects: tips-tricks and future directions. *Injury.* 2011;42(6):591-598.

Giannoudis PV, Harwood PJ, Tosounidis T, Kanakaris NK. Restoration of long bone defects treated with the induced membrane technique: protocol and outcomes. *Injury.* 2016;47 Suppl 6:S53-S61.

Han W, Shen J, Wu H, Yu S, Fu J, Xie Z. Induced membrane technique: Advances in the management of bone defects. *Int J Surg.* 2017;42:110-116.

Henrich D, Seebach C, Nau C, Basan S, Relja B, Wilhelm K, Schaible A, Frank J, Barker J, Marzi I. Establishment and characterization of the Masquelet induced membrane technique in a rat femur critical-sized defect model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(10):E382-E396.

Kaur G, Kumar V, Baino F, Mauro JC, Pickrell G, Evans I, Bretcanu O. Mechanical properties of bioactive glasses, ceramics, glass-ceramics and composites: State-of-the-art review and future challenges. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;104:109895.

Liu X, Min HS, Chai Y, Yu X, Wen G. Masquelet technique with radical debridement and alternative fixation in treatment of infected bone nonunion. *Front Surg.* 2022;9:1000340.

Lu Y, Lai CY, Lai PJ, Yu YH. Induced Membrane Technique for the Management of Segmental Femoral Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Participant Data. *Orthop Surg.* 2023;15(1):28-37.

Masquelet AC. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch Surg.* 2003;388(5):344-346.

- Masquelet AC, Begue T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects. *Orthop Clin North Am*. 2010;41(1):27-37.
- Masquelet AC. Induced Membrane Technique: Pearls and Pitfalls. *J Orthop Trauma*. 2017;31 Suppl 5:S36-S38.
- Morelli I, Drago L, George DA, Gallazzi E, Scarponi S, Romanò CL. Masquelet technique: myth or reality? A systematic review and meta-analysis. *Injury*. 2016;47 Suppl 6:S68-S76.
- Souza MT, Peitl O, Oliveira PT, Zanutto ED. Fibrous scaffolds from a new highly bioactive glass. *Dental Materials*. 2012;28S:e40.
- Souza MT, Rennó ACM, Peitl O, Zanutto ED. New highly bioactive crystallization-resistant glass for tissue engineering applications. *Transl Mater Res*. 2017;4(014002):1-13.
- Team RC (2019) R: a language and environment for statistical computing, version 3.0. 2. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2013.
- Turnbull G, Clarke J, Picard F, Riches P, Jia L, Han F, Li B, Shu W. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact Mater*. 2017;3(3):278-314.