

Modelo experimental de osteotomia em coelhos imaturos.

Experimental model for osteotomy in immature rabbit

MARCOS ALMEIDA MATOS¹, RENATO RIBEIRO GONÇALVES², FRANCISCO PEREIRA ARAÚJO³

RESUMO

Apresenta-se um modelo experimental de osteotomia de fíbula em coelhos com esqueleto imaturo adequado para o estudo do processo de reparação óssea. A osteotomia foi realizada por serra elétrica padronizada, sem utilização de dispositivos de fixação.

Este modelo foi testado em cinco coelhos e constou da descrição detalhada de técnica operatória, anestesia e técnica radiográfica. Os animais foram submetidos a eutanásia após cinco semanas e tiveram suas fíbulas encaminhadas para avaliação histológica.

Comprovou-se que o modelo é eficiente, simples e de fácil execução, tornando-se opção atraente para todos aqueles que desejam realizar estudos de consolidação óssea durante a imaturidade esquelética.

Descritores: Consolidação óssea; estudo experimental - coelho; osteotomia.

INTRODUÇÃO

O profissional que lida com fraturas é, preferencialmente, um bom fisiologista que procura compreender os fenômenos que participam da reparação óssea^(1,3). Contudo o processo de reparação de fraturas ainda permanece um campo aberto para pesquisa, dada à sua complexidade biológica.^(1,2)

Vários modelos experimentais descritos na literatura são úteis para o estudo da reparação óssea. Algumas restrições, entretanto, tornam modelos clássicos inadequados para o objetivo de muitos estudos. O rato e o camundongo, por exemplo, têm uma anatomia e uma biologia óssea diferente do ser humano⁽¹⁰⁾. Mamíferos e primatas são de difícil manuseio e de alto custo para se trabalhar em grupos grandes. Outros animais de pequeno porte apresentam dificuldades técnicas para a realização da fratura ou osteotomia, além de requererem métodos de fixação, o que influencia

SUMMARY

Authors present an experimental model for fibular osteotomy in immature rabbits useful to study healing bone process. Osteotomy was produced by means of electric saw without utilization of fixing devices.

This model was applied in five rabbits were sacrificed after five weeks and had their fibular send for histological evaluation. Operative technique, anesthesia, roentgenographic technique were detailed described.

The model was proved to be efficient, simple and of easy execution, becoming an attractive option for whoever wish to perform studies of bone healing through skeleon development.

Key words: Bone healing; experimental osteotomy; rabbit.

INTRODUCTION

Professionals who work with fractures are preferably good physiologists trying to understand the phenomena taking part in bone healing^{1,3}. However, bone repair of fractures is still an open field for research due to its biological complexity.^(1,2)

Several experimental models described in literature are useful for bone healing study. Some restrictions, however, make classical models inadequate for many study objectives. Rat and mouse, for example, have an anatomy and a bone biology that are different from humans¹⁰. Mammals and primates are difficult to handle and have high cost when large groups are considered. Other small sized animals are technically difficult to produce a fracture or osteotomy and require fixation methods that may influence bone healing^{1,2,3,4,6,10}. It is also difficult to find specific literature on immature skeleton models.

Trabalho realizado na Escola Bahiana de Medicina e no Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

1 - Prof. Assistente da Escola Bahiana de Medicina; pós-graduando do IOT/IFMUSP.

2 - Pós-graduando do IOT/IFMUSP.

3 - Residente e estagiário de pesquisa na Escola Bahiana de Medicina.

This work was performed at Escola Bahiana de Medicina and Instituto de Ortopedia e Traumatologia from Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

1 - Assistant Professor - Escola Bahiana de Medicina; Post graduate student at IOT/IFMUSP.

2 - Post-graduate student at IOT/IFMUSP.

3 - Resident and Research Trainee at Escola Bahiana de Medicina.

Trabalho recebido em 20/12/2000. Aprovado em 12/06/2001

diretamente na reparação óssea.^(1,2,3,4,6,10) Também não se encontra com facilidade publicações específicas com modelos de esqueleto imaturo.

Baseado nestes fatos, apresenta-se um modelo experimental de consolidação óssea em coelhos com esqueleto imaturo, utilizando-se a osteotomia cirúrgica da fíbula. O coelho já é largamente utilizado como animal de experimentação e, por seu tamanho, possibilita fácil manuseio, bem como utilização de grupos moderadamente grandes a baixo custo.^(2,6,10) Além do mais, a anatomia da fíbula do membro pélvico deste animal torna possível observar a consolidação óssea sem a interferência de dispositivos de fixação. Acredita-se que este modelo venha contribuir muito para os pesquisadores que se interessam por este fenômeno biológico complexo denominado reparação óssea.

MATERIAL E MÉTODOS

Animal de experimentação (amostra)

Foram utilizados 5 coelhos (*Oryctologus cuniculus*) machos, da raça nova zelândia albino, com esqueleto imaturo (com anel epifisário radiologicamente aberto), com peso médio de 729,16g (500 a 1000g).

Ambiente

Os animais foram mantidos em biotério, em gaiolas metálicas, medindo 2320cm². Cada gaiola continha um animal que era alimentado com ração padrão peletizada, associada a suplementação hídrica adequada.

Anestesia

Para a realização da técnica anestésica, seguiu-se a metodologia preconizada por HARKNESS E WAGNER (1993)⁽⁵⁾. Os alimentos, mas não a água, foram retirados por 8 a 12 horas antes da anestesia. Cada animal recebeu 0,2 mg/Kg de sulfato de atropina 30 minutos antes do procedimento para diminuir o tônus vagal. A anestesia constou da aplicação na musculatura da porção proximal do membro pélvico de 25 a 30 mg/Kg de cetamina e de 5 a 10 mg/Kg de diazepam. A indução por esta técnica está estimada em 4 a 13 minutos, com uma duração de ação de até 60 minutos.⁽⁵⁾

Técnica operatória

O animal era contido em decúbito dorsal em mesa operatória adequada para coelhos. Realizava-se tricotomia da região lateral (fibular) do membro pélvico direito e procedia-se anti-sepsia com sabão degermante e álcool iodado a 5% em todo o membro. Eram então colocados os campos estéreis, sendo que o membro a ser operado era isolado com o uso de um campo fenestrado. O procedimento operatório constou de uma via de acesso lateral no membro pélvico direito de aproximadamente 5mm na região da pele suprajacente à fíbula. Em seguida procedia-se a divulsão da pele, subcutâneo e abertura da fascia dos músculos fibulares, os quais eram afastados e isolados da porção cranial da fíbula. Exposta a fíbula e desnudada do seu perióstio, procedia-se uma osteotomia diafisária na sua porção cranial, utilizando-se serra elétrica com lâmina padronizada de 12mm de largura e de 0,5 mm

Based on this, it is presented an experimental model of bone healing in immature skeleton rabbits, using open osteotomy of the fibula. Rabbits are largely used as experimental animals, allowing easy handling as well as moderately large groups are affordable^{2,6,10}. Besides, the fibular anatomy of the pelvian limb of this animal makes possible to evaluate bone healing without interference of fixation devices. We believe that this model can contribute very much for researchers who are interested in the complex biological phenomenon called bone healing.

MATERIAL AND METHODS

Animals (sample)

*Five immature skeleton (epiphysial ring still open) albino New Zealand male rabbits (*Oryctologus cuniculus*) were used. Their weight averaged 729,16g (500 to 1000g).*

Environment

The animals were kept in a bioterium in 2320cm² metallic cages. Each cage had one animal feed with standard ration and water.

Anesthesia

HARKNESS and WAGNER (1993)⁵ method was used. Food, but not water was removed for 8 to 12 hours before anesthesia. Each animal was given 0.2 mg/kg of atropine sulphate in order to reduce vagal tonus. Anesthesia consisted in an injection of 25 to 30 mg/kg of ketamine and 5 to 10 mg/kg of diazepam in the proximal muscle region of the pelvian limb. The induction through this technique is estimated to take 4 to 13 minutes, lasting for up to 60 minutes.⁵

Operative technique

The animal was restrained lying back in an adequate operative table. Trichotomy of lateral (fibular) region and antisepsis with degermant soap and 5% iodinated alcohol of all the limb were performed. The area was delimited by sterile drapes. An approximately 5 mm lateral approach to the pelvian limb was performed, over the skin above the fibula. Following division of skin and sub-cutaneous tissue were performed and fibular muscle fascia opened, the muscles retracted and isolated. The fibula was exposed and the periosteum cleared. A shaft osteotomy was then performed in its cranial portion by means of an electric saw with a pattern blade of 12 mm wide and 0.5 mm thick. Polyvicril 5-0 sutures were placed closing the fascia, and Mononylon 5-0 stitches used for closing skin. No patch was used. This procedure was performed in all the 5 rabbits.

Radiological evaluation

Each animal underwent radiological evaluation, just after the procedure and after a 5 weeks period, when a significant bone repair was anticipated. The radiologic technique used was as

de espessura. O fechamento da ferida operatória foi realizado usando-se fio absorvível de polivicril 5-0 para o fechamento da fascia e fio inabsorvível de mononylon 5-0 para o fechamento da pele, sendo a sutura de pele deixada sem curativo. Este procedimento operatório foi realizado em todos os 5 coelhos.

Avaliação radiológica

Foram obtidas duas avaliações radiológicas de cada animal. Uma imediatamente após o procedimento e outra após um período de cinco semanas quando já se esperava uma consolidação radiológica significativa. A técnica radiológica baseou-se naquela descrita por RIBEIRO, AMSTALDEN, E IZALTO (1993)⁽¹¹⁾, sendo as radiografias realizadas com um aparelho Toshiba XR6010 de 10mas, usando-se um tempo de exposição de 0,3ms, carga de 60Kv, uma distância de 70cm e filme Kodak 13x18. Na primeira radiografia observou-se o tipo e local da osteotomia e na segunda radiografia observou-se o estágio radiológico da consolidação da osteotomia ou a presença de retardo de consolidação e pseudoartrose.

described by RIBEIRO, AMSTALDEN, and IZALTO (1993)¹¹, being the radiographies taken with a Toshiba XR6010 / 10mas equipment, with an exposure time of 0.3ms, load of 60Kv, distance of 70cm and used Kodak 13x18 films. Kind and place of osteotomy were observed in the first radiography and bone healing phase or healing delay or pseudoarthrosis in the second.

Histological evaluation

After five weeks the animals were pharmacologically sacrificed with the above described anesthesia technique followed by an intravascular injection of 2 ml of potassium chloride. The fibulas were removed and cleared from soft tissues and placed in 10% formalin solution, being then sent to the histopathology laboratory. There, the fibulas were decalcificated with nitric acid 7.5% and included in paraffine. Sagital cuts about 7 μ thick were performed and stained with hematoxilin-eosin method for plain optical microscope examination.

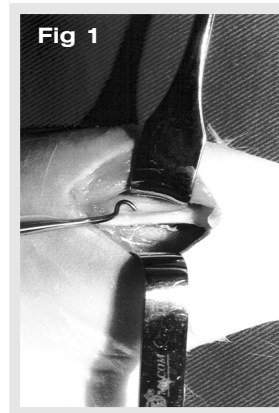


Figura 1 – Aspecto intra-operatório, mostrando a fibula do membro pélvico do coelho exposta e reparada para a osteotomia.
Figure 1 – Intra operative aspect displaying the fibula of the pelvic limb of a rabbit exposed and ready for osteotomy.

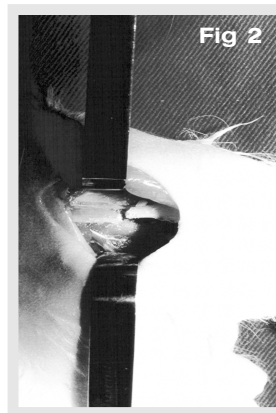


Figura 2 – Aspecto intra-operatório, mostrando a osteotomia realizada na diáfise fibular.
Figure 2 – Intra operative aspect showing osteotomy performed in fibular shaft.

Avaliação histológica

Ao final de cinco semanas os animais foram submetidos a eutanásia farmacológica, que constou da aplicação da anestesia descrita anteriormente, associada a uma dose de 2ml de cloreto de potássio por via intravascular. Suas fíbulas foram dissecadas, extirpadas das partes moles adjacentes, fixadas em formalina a 10% e encaminhadas para o laboratório de histopatologia. No laboratório, as peças foram descalcificadas com ácido nítrico a 7,5%, procedeu-se a inclusão em parafina e realizarem-se cortes no sentido longitudinal das peças de aproximadamente 7 μ de espessura, sendo as lâminas coradas pelo método da hematoxilina-eosina e estudadas em microscópio ótico comum.

RESULTS

No complication was observed in surgical wound and no change in physical health or behavior was noticeable, making us believe that no incapacity or suffering was caused to the animals.

Osteotomy was performed with no difficulty in all the animals. Radiologic evaluation showed that the site of osteotomy was in fibular shaft bone, and the radiological aspect was always very similar, with bone repair callus formation observed in all cases after five weeks.

Histological evaluation of sites of osteotomy demonstrated



Fig 3



Fig 4



Fig 5



Fig 6

Figura 3 – Aspecto radiográfico pré-operatório, mostrando a anatomia da fíbula e da tíbia do coelho que são fusionadas na sua porção distal.

Figura 4 – Aspecto radiográfico, mostrando a localização da osteotomia na diáfise fibular (seta).

Figura 5 – Aspecto radiográfico, mostrando a presença de calo ósseo no sítio da osteotomia.

Figura 6 – Aspecto histológico do sítio da osteotomia, onde se observa tecido ósseo em estágio reparatório avançado.

Figure 3 – Pre operative radiographic aspect displaying fibular and tibial rabbit anatomy with fusion in their distal portion.

Figure 4 – Radiographic aspect displaying the osteotomy placed in fibular shaft (arrow).

Figure 5 – Radiographic aspect, showing presence of bone callus at osteotomy site.

Figure 6 – Histological aspect of osteotomy site. Advanced healing tissue can be observed.

RESULTADOS

Nenhum problema com o ferimento cirúrgico foi observado e também não houve evidências de alteração na saúde física ou no comportamento dos coelhos, levando a crer que o método não produziu incapacidade ou sofrimento para os animais.

A osteotomia foi realizada sem dificuldades em todos os animais. A avaliação radiográfica, realizada conforme descrição anterior, mostrou que o sítio da osteotomia localizou-se no osso diáfisário da fíbula, sendo o aspecto radiográfico sempre muito semelhante, mostrando evidências de formação de calo reparatório em todas as osteotomias ao final de cinco semanas.

A avaliação histológica dos sítios das osteotomias mostrou que nos cinco casos estudados, a reparação óssea encontrava-se em estágio avançado. Uma visão da realização da osteotomia no intra-operatório pode ser observada nas figuras 1 e 2. O aspecto radiográfico pré e pós-operatório encontra-se nas figuras 3 e 4, o aspecto da osteotomia já consolidada encontra-se na figura 5. A figura 6 mostra o calo em estágio reparatório bastante avançado após cinco semanas da osteotomia.

DISCUSSÃO

Muitos modelos experimentais têm sido utilizados para estudar o processo de consolidação de fraturas. O problema é que devido às diferenças anatômicas, biológicas e técnicas, nem sempre estes modelos fornecem parâmetros adequados para o ser humano.^(10,12) Existem descritos, com sucesso, estudos em camundongo, cavalo, rato, gato, cão, ovelha, galinha, pombo, primatas, coelhos e em outros animais menos comuns⁽¹⁰⁾. Cada pesquisa revela vantagens e desvantagens próprias, devendo o

that in all cases bone healing was in advanced phase. An intraoperative view of the osteotomy can be observed in Figures 1 and 2. Radiological aspect pre and postoperative can be seen in Figures 3 and 4, and the aspect of the consolidated osteotomy in Figure 5. Figure 6 displays a callus in a very advanced healing phase, five weeks after osteotomy.

DISCUSSION

Many experimental models were used to study fracture consolidation process. The problem is that due to anatomical, biological and technique differences, these models not always give adequate parameters for humans.^(10,12) Successful studies in mouse, horse, rat, cat, dog, sheep, chicken, pigeon, primates, rabbits and less common animals were described¹⁰. Every model of research has advantages and disadvantages, and the researcher should be wise to retrieve from the literature the better fitting to the proposed study method.

Exact understanding of the factors influencing the biological process of bone healing depends on adequately adapted experimental models. Each model fits better a given kind of study. The importance of the development of new experimental models lays on the need to make available for the researchers a wide variety that can fit the specific objectives.

Some already studied models bring difficulties in gathering trustful data when it is decided to compare them to spontaneous bone healing in humans, particularly in pediatric patients. These difficulties come from the need of using fixation devices, excessive mobility of the fracture when not fixated, difficulties in

investigador ser hábil o bastante para retirar da literatura o modelo que melhor se adequa ao estudo proposto.

A compreensão exata dos fatores que influenciam o processo biológico da consolidação óssea depende de modelos experimentais devidamente adaptados aos seus objetivos da pesquisa. Cada modelo aplica-se melhor a um determinado tipo de estudo. A importância do desenvolvimento de novos modelos experimentais reside na necessidade de se colocar à disposição dos investigadores uma variedade ampla que ajuste-se a objetivos específicos.

Alguns modelos, já estudados, apresentam dificuldades na obtenção de dados fidedignos quando se deseja compará-los com a consolidação espontânea de fraturas em humanos, especialmente em pacientes pediátricos. Estas dificuldades passam pela necessidade de aparelhos para fixação, pela hiper mobilidade do foco quando não se fixa a fratura, pela dificuldade de se obter fraturas uniformes quando produzidas manualmente, pelas dimensões do animal e, às vezes, até pela falta de costume no manuseio do animal escolhido.^(1,4)

A maioria dos estudos de reparação óssea envolve animais com esqueleto maduro; sendo que em boa parte deles, o rato é o animal de escolha.^(4,6,10) As vantagens são o seu pequeno porte e o manuseio fácil. As fraturas podem ser produzidas sem dificuldade de forma manual, mas normalmente se encontra uma dificuldade técnica na sua padronização.^(4,6) Já os procedimentos cirúrgicos envolvendo animais de tão pequeno tamanho são trabalhosos, além do mais, osteotomias ou fraturas nestes animais normalmente requerem algum método de fixação (interna ou externa) e isto implica em um modelo de reparação que sofre influência dos dispositivos de fixação.^(4,10)

O rato e o camundongo, possuem um processo reparatório diferente do homem pois estes animais são desprovidos de um sistema harvesiano ósseo e isto impossibilita estudos que pretendam examinar a forma, função ou propriedades materiais e biomecânicas do sistema harvesiano.⁽¹⁰⁾ É difícil obter múltiplas amostras de um mesmo osso destes pequenos roedores, os quais também não se mostram práticos para estudos biomecânicos e testes de biomateriais, pois requerem métodos difíceis para a fixação da fratura ou osteotomia proposta.^(6,10)

Os grandes animais, tais como mamíferos, cães e primatas, exigem custos elevados para sua utilização. É importante que se use um número suficiente de animais para que se garanta uma significância estatística⁹. Vinte, trinta ou quarenta animais de grande porte em uma pesquisa pode ser muito dispendioso, além do que o manejo destes animais pode ser extremamente difícil para um pesquisador comum.

O coelho, no entanto, é um animal ao qual grande parte dos pesquisadores está acostumada. O seu tamanho é pequeno o bastante para serem utilizados grupos moderadamente numerosos, mas é grande o suficiente para possibilitar a fixação da fratura ou osteotomia, administração de drogas por via parenteral e a realização de experimentos biofísicos. O coelho também possui um sistema harvesiano ósseo parecido com o do homem, por isto o tipo de reparação óssea pós-fratura que ocorre neste animal é muito semelhante ao dos seres humanos.^(1,2,5,10,12)

obtaining uniform fractures when manually produced, animal size, and sometimes even because the lack of ability to deal with the chosen animal.^{1,4}

Most of the studies in bone healing involve mature skeleton animals being the rat chosen in the majority of them^{4,6,10}. The advantages are their small size and easy handling. Fractures can be easily produced by manual means, however a technical difficulty is usually found in the standardization^{4,6}. Yet surgical procedures with so small sized animals are difficult and additionally osteotomy or fractures in these animals usually require fixation (external or internal) and this leads to a healing model that is influenced by fixation devices.^(4,10)

Rats and mice have a healing process that is different from humans, since they haven't a Harvesian bone system preventing studies aiming to evaluate the form, function or material and biomechanical properties of Harvesian system¹⁰. It is difficult to get multiple samples of a same bone in these small rodents, that also are not practical for biomechanics and biomaterial tests for requiring difficult methods for fracture or osteotomy fixation^(6,10).

Large animals such as mammals, dogs and primates request expensive costs for their use. It is important that a number large enough of animals is used, in order to reach a statistic significance⁹. Twenty, thirty, or forty large sized animals in a research can be very expensive, and handling them can be very difficult for a regular investigator.

Rabbits however are animals to what most of the researchers are used. Their size is small enough to allow the use of moderately large number of animals, but large enough to allow fixation of the fracture or osteotomy, para-enteral drug administration and biophysical experimentation. Rabbits also have an Harvesian bone system that is similar to human's, so the kind of bone healing after a fracture is very similar to human's one^(1,2,5,10,12)

In this model the rabbit was chosen for being easy to handle, having a size allowing the technical execution of the osteotomy, and because placing them in a cage allows a life closer to the normal. The use of an animal with immature skeleton makes this model peculiar for the study of bone healing when the objective is to extrapolate the data for human pediatric population.

The fractures were surgically executed by means of an electric saw, presenting the same pattern. The traces were similar in their shape and bone location, what is mentioned by some authors as necessary for comparability in performing this kind of study.^{4,9} *For this reason, this was not a technical difficulty of this method. The anatomy of the pelvic limb of the rabbit, with a fusion of tibia and fibula in their distal portion allowed to avoid the use a fixation, since the animal could walk normally without noticeable prejudices. The lack of fixation is also desirable in order to observe the natural formation of bone callus without concerns on interference of fixation material.*^{3,4}

It is estimated that in 6 weeks a hole of 5.5 mm produced in a dog tibial metaphysis will have completed its healing process¹¹ but the same was not completely observed in rabbits in a similar experimentation by KATTHAGEN & MITELMEIER⁷. Probably, the fact that these authors used a 6 mm hole may explain it, since the

Neste modelo, escolheu-se o coelho pela facilidade de manuseio, por ter um tamanho que facilita a execução técnica de uma osteotomia e porque o condicionamento deste animal em gaiolas possibilita atividade bem próxima à normal. A utilização do animal com esqueleto imaturo caracteriza este modelo como peculiar no estudo da consolidação óssea, quando o interesse é extrapolar os conhecimentos obtidos para a população pediátrica humana.

As fraturas foram executadas cirurgicamente com o auxílio de uma serra elétrica e apresentaram o mesmo padrão, cujos traços foram semelhantes quanto à forma e à sua localização no osso, pré-requisitos citados por alguns autores como necessários para comparação e execução deste tipo de estudo^(4,8). Isto, portanto, não se constituiu em uma dificuldade técnica deste modelo experimental. A anatomia do membro pélvico do coelho, cuja tibia e fíbula encontram-se fundidas em sua porção distal permitiu a não utilização de fixação que tornou-se dispensável, pois o animal continuou deambulando ativamente e sem prejuízos perceptíveis após o procedimento. A não utilização de fixação também é desejável para se observar a formação natural do calo ósseo, sem preocupação com alterações advindas da presença do material de síntese.^(3,4)

Estima-se que em 6 semanas o preenchimento de um orifício ósseo de 5,5mm feito em metáfises tibiais de cães já tenha completado⁽¹¹⁾ o seu processo reparatório, muito embora o mesmo não tenha acontecido completamente com coelhos utilizados em experimento semelhante realizado por KATTHAGEN & MITELMEIER⁽⁷⁾, talvez pelo fato destes autores terem utilizado orifícios de 6mm, que são maiores absoluta e relativamente^(7,11). Aqui, portanto, resolveu-se usar um tempo semelhante, embora discretamente menor devido ao fato de animais imaturos possuírem maior potencial reparativo. Este tempo mostrou-se suficiente pois ao final das cinco semanas, todos os animais já apresentavam calo radiográfico e apresentavam um estudo histológico que demonstrava tecido em estágio reparatório avançado no sítio da osteotomia.

A otimização deste modelo foi realizada com cinco coelhos para se evitar perda desnecessária⁽⁹⁾, pois mostrou-se objetivamente uniforme em todos os animais. Acredita-se que a partir destes dados de otimização, experimentos com números maiores possam ser realizados utilizando-se o modelo proposto para estudos aplicados, tais como efeitos de drogas e de métodos de síntese sobre a regeneração óssea, especialmente em esqueleto imaturo.

CONCLUSÃO

O modelo experimental apresentado para o estudo da reparação óssea utilizando a osteotomia da fíbula de coelhos com esqueleto imaturo é uma técnica facilmente exequível, que possibilita pesquisar um número moderadamente grande de animais a um custo relativamente pequeno. Este modelo deverá contribuir adequadamente para estudos de consolidação óssea sob o efeito de drogas e condições fisiológicas e patológicas variadas em animais em crescimento.

hole was larger both physical and relatively^{7,11}. So, in this case we decided to use a similar time, however slightly shorter, since these were immature animals with a greater regenerative potential. This time showed to be enough since after five weeks all the animals had a radiographic callus and the histological study demonstrated that healing process was advanced.

Optimization of the model was performed with five rabbits in order to avoid unnecessary losses⁹, since it was objectively uniform in all animals. It is believed that starting from this optimization, larger experiments can be performed for applied studies, such as those to evaluate the effect of drugs and fixation methods over bone healing, particularly in immature skeleton.

CONCLUSION

The experimental model presented for study of bone healing, using fibular osteotomy in immature rabbits is an easy to perform technique that allows the use of a relatively large number of animals at affordable costs. This model will probably contribute to the study of bone healing under drug effects and under physio and pathological different conditions over growing animals.

REFERÊNCIAS

1. Bonnarens, F. & Einhorn, T.A.: Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res*, 2: 97-101, 1984.
2. Brighton, C.T., Horzack, W.J., Brager, M.D., et al: Fracture healing in the rabbit fibula when subjected to various capacitively electrical fields. *J Orthop Res*, 3:331-340, 1985.
3. Camargo, J.N.J.: Estudo experimental comparativo da morfologia e da dinâmica da população celular no calo de reparação de fraturas de ossos longos tratados com e sem osteossíntese intramedular. Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1972.
4. Guarniero, R.: Estudo da consolidação de fraturas na desnutrição protéica: trabalho experimental em ratos, São Paulo. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1987.
5. Harkness, J.E. & Wagner, J.E.: *Biologia e clínica de coelhos e roedores*. Ed. Roca, 3ª ed., São Paulo-SP, 1993.
6. Hiltunen, A., Vuorio, E., Aro, H.T.: A standardized experimental fracture in mouse tibia. *J Orthop Res*, 11:305-312, 1993.
7. Katthagen, B. D. & Mitelmeier, H.: Experimental animal investigation of bone regeneration with collagen-apatite. *Arch Orthop Trauma Surg*, 103:291-302, 1984.
8. Köberle, G.: Estudos físicos e biológicos em tecido ósseo. Tese apresentada à Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1974.
9. Leopizzi, N., Bollinger Neto, R., Barros Filho, T.E.P., Azze, R.J.: Modelos experimentais em ortopedia e ISO 10993: Biological evaluation of medical devices – part 2: animal welfare requirements. Interpretação e extensão da norma. *Acta Ortop Bras* 6:139-142, 1998.
10. Nunamaker, V.M.D.: Experimental model of fracture repair. *Clin Orthop*, 355S:57-65, 1998.
11. Ribeiro, R.F.; Amstalden, E.M.I. & Izalto, I.C.: Modelo experimental de regeneração óssea espontânea. *Rev Bras Ortop*, 31: 931-935, 1996.
12. Turek, S.L.: Reparo da fratura simples de um osso longo. in *Ortopedi - Princípios e sua aplicação*. São Paulo, Manole Ltda, 1991. Cap.3, p.58-62.
13. Watson-Jones, R.: *Fractures and joint injuries*. 5ª ed. London, Churchill Livingstone, 1976.