

MODELO ANIMAL MINIMAMENTE INVASIVO PARA IMPLANTE EM CÔNDILOS FEMORAIS DE COELHOS

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.031-061>

Marco Antonio Schueda

Doutor e Coordenador da Faculdade de Medicina da Universidade do Contestado
E-mail: schueda.sc@gmail.com

Thiago Fuchs

Mestre e Coordenador da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade do Contestado
E-mail: thiago.fuchs@professor.unc.br

Lara Thaís Marcon

Graduanda da Faculdade de Medicina da Universidade do Contestado
E-mail: lara.marcon@aluno.unc.br

Juliana Leite de Oliveira

Graduanda do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Contestado
E-mail: juliana.oliveira@aluno.unc.br

Debora Endler Simioni

Graduanda da Faculdade de Medicina da Universidade do Contestado
E-mail: debora.simioni@aluno.unc.br

Camila Lucachinski

Graduanda da Faculdade de Medicina da Universidade do Contestado
E-mail: camila.lucachinski@aluno.unc.br

RESUMO

Objetivo: O presente estudo teve como principal intento criar Modelo Animal que permitisse avaliação de reação óssea em implantes de maneira minimamente invasiva. Metodologia: Em região condiliana lateral e medial do fêmur em joelho de coelho fixou-se, com guia específico, implante intra ósseo de 7 x 2,5 mm. Resultados e discussão: Coelhos são animais conhecidos e os muito utilizados para avaliação de reação óssea. Sua resposta inflamatória (reação periosteal) densidade mineral óssea dos ossos longos são comparáveis aos dos humanos. Fazendo um Modelo Animal com menor agressão e padronização nos implantes premiaríamos menor dano ao animal e maior replicabilidade na amostra pesquisada. Conclusão: Conseguiu-se formatar Modelo Animal que se mostrou de execução simples e reproduzível.

Palavras-chave: Modelo Animal em coelho. Côndilos femorais. Implantes ósseos.

1 INTRODUÇÃO

Com a evolução da ciência e tecnologia, principalmente no campo da medicina, a utilização de Modelos Animais para a evolução de técnicas e tratamentos tornaram-se de suma importância. Galeno (129-210 D.C.), precursor de pesquisas médicas experimentais com o uso de animais inspirou adeptos a este plano de estudo, mas foi Claude Bernard em 1865, que lançou os princípios do seu uso no trabalho “Introdução ao Estudo da Medicina Experimental” estabelecendo as regras e os princípios para tal. A partir daí, a significância da utilização de modelos animais ganhou maior atenção e relevância.¹

Na ortopedia, faz-se necessária uma anatomia com maior proximidade ao humano, além da composição fisiopatológica e histológica similar para poder apresentar resultados relevantes.²

Vários modelos de teste animal: como ratos/camundongos^{3,4,5}, coelhos^{3,6,7}, cachorros^{3,8,9}, ovelhas^{3,10,11}, cabras^{3,12,13} e porcos^{3,14,15}, foram desenvolvidos para simular ambiente e condições físicas testando a biocompatibilidade de biomateriais substitutos para ósseos humanos “*in vivo*”. A fim de simular várias situações ortopédicas, muitos locais de defeitos os quais foram explorados, como calvária^{3,16,17}, fêmur/tíbia^{3,18,19} e ulna^{3,20,21,22}.

Fatores devem ser considerados para selecionar uma espécie animal específica como modelo de teste. Em primeiro lugar, o modelo animal escolhido deve demonstrar claramente analogias fisiológicas e fisiopatológicas significativas em comparação aos humanos. Em segundo lugar, deve avaliar se é possível operar e observar uma multiplicidade de objetos de estudo após a cirurgia durante um período de tempo²³. Outros critérios de seleção incluem custos de aquisição e cuidados, disponibilidade do animal, aceitabilidade pela sociedade, tolerância ao cativeiro e facilidade de alojamento²⁴. De acordo com o padrão internacional, devemos também considerar o tamanho dos espécimes de teste de implante, número de implantes por animal, duração pretendida do teste e possíveis diferenças entre as espécies quando correlacionadas com às respostas biológicas.²⁵

No presente estudo, preferiu-se utilizar como modelos anatômicos coelhos por motivos abordados na discussão desse artigo.

Será apresentado neste trabalho um novo procedimento que facilitará a avaliação de biocompatibilidade e recuperação pós implantes cortico esponjosos na Medicina e Medicina Veterinária nas especialidades da Ortopedia, Traumatologia, Odontologia e Neurologia de modo minimamente invasivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trabalho realizado no Centro Cirúrgico Veterinário do Campus Mafra da UNC – Fundação Universidade do Contestado (Figuras 1 A e 1 B) sob protocolo CEUA 03/24.

Fig. 1 A – Centro Cirúrgico Veterinário da UNC (Campus Mafra - SC)

Fig. 1 B – Sala de Procedimentos com equipamentos de iluminação, instrumentação e anestesia específicos.



Utilizou-se peça de membro inferior esquerdo de coelho da raça Nova Zelândia com peso da peça de 256 gramas. Preparo e disposição dos materiais e peça cirúrgica (Figura 2).

Fig. 2 – Materiais e peça preparados



Após localização da articulação do joelho com fio de Kirschner 2.0 palpa-se o côndilo lateral do fêmur e com bisturi cabo 4 com lâmina 23 realiza-se incisão de 1 cm na pele, subcutâneo e periósteo. Posiciona-se instrumental na superfície antero lateral e guia no côndilo medial. Perfura-se, primeira cortical, esponjosa até transfixa-lo pelo côndilo medial. (Figuras 3 A, 3 B e 3 C)

Fig. 3 A – instrumental criado para passagem da broca e introdução dos parafusos metálicos para permitir técnica minimamente invasiva.

Fig. 3 B – Após passagem do Fio de Kirschner 2.0 na articulação do joelho posiciona-se o guia.

Fig. 3 C – Após colocação do guia realiza-se a passagem da broca 2,0 entre os côndilos



Retira-se o guia e utilizando a orientação da saída da broca realiza-se incisão de 1 cm pele, subcutâneo e periósteo da região do côndilo medial.

Visualizando a perfuração do côndilo medial fixamos o parafuso 2,5 x 7 mm até alinhar-se com a superfície cortical do côndilo femoral. Da mesma maneira seguindo a orientação da entrada da broca no côndilo lateral fixamos o outro parafuso. (Figuras 4 A, 4 B e 4 C)

Fig. 4 A – após retirada do guia permanece a broca na posição trans condiliana do fêmur distal.

Fig. 4 B – Orientados pela saída da broca no côndilo medial do fêmur fixamos o parafuso rosqueado 2,5 x 7 mm.

Fig. 4 C – Da mesma forma orientados pela entrada da broca no côndilo lateral fixamos o parafuso similar.

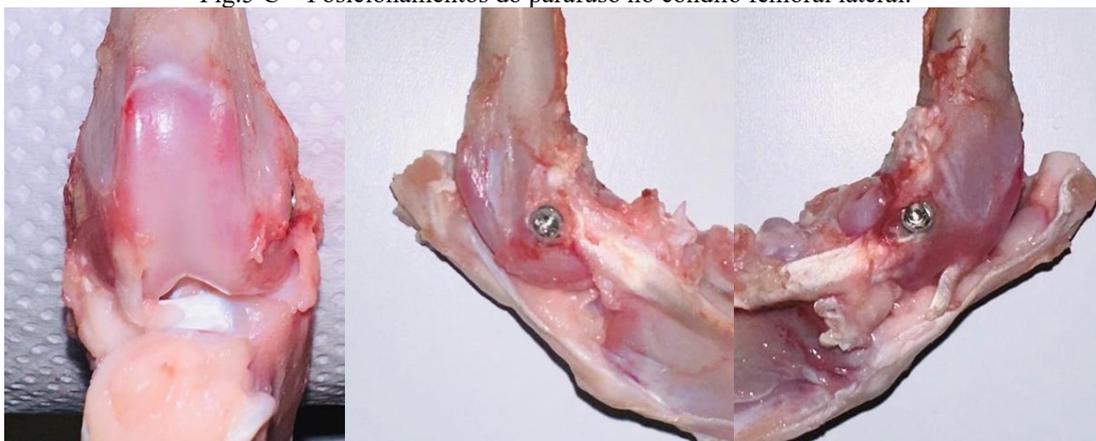


Quando realizado em animal vivo e anestesiado, após fixação dos parafusos, realiza-se sutura-se pele com pontos únicos de mononylon 2.0.

Tempo de duração do procedimento em modelo 5 minutos, estima-se que in vivo após plano anestésico e colocação de campos possa ter a duração de 10 a 15 minutos.

Abaixo verificamos o aspecto final pós implante dos parafusos metálicos (Figuras 5 A, 5 B e 5 C)

Fig.5 A – Posicionamentos dos parafusos nos côndilos femorais visto de frente,
 Fig.5 B – Posicionamentos do parafuso no côndilo femoral medial.
 Fig.5 C – Posicionamentos do parafuso no côndilo femoral lateral.



Realizou-se, após o procedimento, para visualização do posicionamento dos implantes, estudo de imagem em equipamento de Raio-X Digital Agfa Apolo com painel plano modelo EVS 3643. (Figuras 6 A em Antero Posterior e 6 B em Perfil)

Fig. 6 A – Estudo radiográfico em AP (Antero Posterior) do joelho do estudo
 Fig. 6 B – Estudo radiográfico em Perfil da do joelho do estudo



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um modelo deve ter características suficientes para ser semelhante ao objeto imitado e ter a suficiente capacidade de ser manipulado sem as limitaoes do objeto imitado.

Deverá atender aos pressupostos de:

- a- Permitir o estudo dos fenmenos biológicos ou de comportamento do animal;
- b- Que um processo patológico espontâneo ou induzido possa ser investigado;
- c- Que o fenmeno, em um ou mais aspectos, seja semelhante ao fenmeno em seres humanos.²⁶

O coelho é uma das espécies animais mais utilizadas na investigação músculoesquelética, figurando em 35% de todos os estudos relatados nesta área.^{27,28} São muito disponíveis e fáceis de abrigar e manusear^{29,30}. Custos associados ao seu manejo e instalações cirúrgicas são menos onerosos que os dos animais de grande porte. Seu tamanho e desenvolvimento filogenético mínimo, satisfazem os requisitos dos implantes ortopédicos dimensões e aceitabilidade ética²⁹, preenchendo assim a lacuna entre roedores e modelos animais grandes e caros para pesquisa translacional.³⁰

Apesar das grandes diferenças na forma óssea, na carga mecânica e na microestrutura dos ossos, grandes semelhanças foram relatadas em termos de densidade mineral óssea dos ossos longos de coelhos em comparação aos dos humanos.^{31,32} Além disso, em comparação com outras espécies, como primatas ou alguns roedores, o coelho tem mudança esquelética e renovação óssea mais rápidas.³³

Em relação à resposta do hospedeiro, o sistema imunológico do coelho é geneticamente mais semelhante ao dos humanos do que os genes dos roedores³⁴ e a resposta inflamatória (reação periosteal em ossos longos em coelhos são comparáveis aos dos humanos).³⁵

O tamanho dos coelhos permite a implantação de dispositivos ortopédicos semelhantes à situação humana como implantes (pinos, parafusos, etc...), artroplastia parcial da articulação (dispositivos de elastômero de silício) e síntese de fraturas (placas e parafusos). Apesar de suas dimensões adequadas, os implantes múltiplos e volumosos são claramente limitados, exigindo coelhos com peso superior a 3 kg ou espécies maiores, com exceção dos côndilos femorais, que podem receber múltiplos implantes de pequeno tamanho ou implantes cilíndricos largos.³⁶ Essas características fazem dos coelhos a primeira escolha quando os pesquisadores desenvolvem um modelo animal para o teste *in vivo* de um novo biomaterial substituto ósseo.³⁷

Entre várias vantagens sobre outras espécies eles atingem a maturidade sexual e esquelética por volta dos 5-6 meses de idade, permitindo assim uma reprodução fácil e rápida e proporcionando uma estrutura óssea madura para fins ortopédicos. Os machos são usados com mais frequência porque crescem mais rapidamente que as fêmeas e atingem dimensões maiores. (os machos ganham 1 e 0,7 mm de comprimento femoral e tibial, respectivamente, a cada 2 semanas de idade, em comparação com 0,2 e 0,4 mm para as fêmeas).³⁸

Tanto a padronização genética quanto o grande número de indivíduos disponíveis para fins de pesquisa tornam o coelho útil para múltiplas investigações. Para satisfazer os requisitos acima mencionados, o coelho da raça Nova Zelândia é a cepa mais adequada na pesquisa ortopédica, e foi relatado como sendo utilizado em 99% dos estudos.^{39,40}



4 CONCLUSÃO

O presente modelo animal em coelhos permite formatar a técnica para implantes cortico esponjoso de simples execução. Sendo reproduzível e minimamente invasiva, poderá contribuir com estudos de interação fisiológica de implantes em tecido ósseo.



REFERÊNCIAS

Rebollo RA.; O legado Hipocrático e sua fortuna no período greco-romano: de Cós a Galeno. *Scientiae Studia* [online]. 2006; v. 4, n.1; 45-81

Fagundes DJ. e Taha MO.: Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirúrgica Brasileira* [online]. 2004; v.19, n.1.

Ye L., Shu-Kui C., Long L., Ling Q., Xin-Luan W., Yu-Xiao L.; Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. review article *Journal of Orthopaedic Translation* (2015) 3, 95-104

Zwingenberger S, Niederlohmann E, Vater C, Rammelt S, Matthys R, Bernhardt R, et al. Establishment of a femoral critical-size bone defect model in immunodeficient mice. *J Surg Res* 2013; 181; 7-14.

Bateman JP, Safadi FF, Susin C, Wikesjo UM. Exploratory study on the effect of osteoactivin on bone formation in the rat critical-size calvarial defect model. *J Periodontal Res* 2012; 47: 243-247.

Zhang X, Cai Q, Liu H, Heng BC, Peng H, Song Y, et al. Osteoconductive effectiveness of bone graft derived from antler cancellous bone: an experimental study in the rabbit mandible defect model. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012;41: 1330-1337.

Schneider G, Blechschmidt K, Linde D, Litschko P, Korbs T, Beleites E. Bone regeneration with glass ceramic implants and calcium phosphate cements in a rabbit cranial defect model. *J Mater Sci Mater Med* 2010; 21: 2853-2859.

Yano K, Namikawa T, Uemura T, Hoshino M, Wakitani S, Takaoka K, et al. Regenerative repair of bone defects with osteoinductive hydroxyapatite fabricated to match the defect and implanted with combined use of computer-aided design, computer-aided manufacturing, and computer-assisted surgery systems: a feasibility study in a canine model. *J Orthop Sci* 2012; 17: 484-489.

Takigami H, Kumagai K, Latson L, Togawa D, Bauer T, Powell K, et al. Bone formation following OP-1 implantation is improved by addition of autogenous bone marrow cells in a canine femur defect model. *J Orthop Res* 2007; 25:1333-1342.

Yang HL, Zhu XS, Chen L, Chen CM, Mangham DC, Coulton LA, et al. Bone healing response to a synthetic calcium sulfate/beta-tricalcium phosphate graft material in a sheep vertebral body defect model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2012; 100: 1911-1921.

Reichert JC, Epari DR, Wullschleger ME, Saifzadeh S, Steck R, Lienau J, et al. Establishment of a preclinical ovine model for tibial segmental bone defect repair by applying bone tissue engineering strategies. *Tissue Eng Part B Rev* 2010;16: 93-104.

Lippens E, Vertenten G, Girones J, Declercq H, Saunders J, Luyten J, et al. Evaluation of bone regeneration with an injectable, in situ polymerizable Pluronic F127 hydrogel derivative combined with autologous mesenchymal stem cells in a goat tibia defect model. *Tissue Eng Part A* 2010;16: 617-627.

Yu D, Li Q, Mu X, Chang T, Xiong Z. Bone regeneration of critical calvarial defect in goat model by PLGA/TCP/rhBMP-2 scaffolds prepared by low-temperature rapid-prototyping technology. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008; 37: 929-934.



Wehrhan F, Amann K, Molenberg A, Lutz R, Neukam FW, Schlegel KA. PEG matrix enables cell-mediated local BMP-2 gene delivery and increased bone formation in a porcine critical size defect model of craniofacial bone regeneration. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23: 805-813.

Springer IN, Acil Y, Kuchenbecker S, Bolte H, Warnke PH, Abboud M, et al. Bone graft versus BMP-7 in a critical size defect cranioplasty in a growing infant model. *Bone* 2005; 37:563-569.

Rahman CV, Ben-David D, Dhillon A, Kuhn G, Gould TW, Muller R, et al. Controlled release of BMP-2 from a sintered polymer scaffold enhances bone repair in a mouse calvarial defect model. *J Tissue Eng Regen Med* 2014; 8: 59-66.

Das A, Tanner S, Barker DA, Green D, Botchwey EA. Delivery of S1P receptor-targeted drugs via biodegradable polymer scaffolds enhances bone regeneration in a critical size cranial defect. *J Biomed Mater Res A* 2014; 102:1210-18.

Li R, Nauth A, Li C, Qamirani E, Atesok K, Schemitsch EH. Expression of VEGF gene isoforms in a rat segmental bone defect model treated with EPCs. *J Orthop Trauma* 2012; 26: 689-92.

Cheng C, Alt V, Dimitrakopoulou-Strauss A, Pan L, Thormann U, Schnettler R, et al. Evaluation of new bone formation in normal and osteoporotic rats with a 3-mm femur defect: functional assessment with dynamic PET-CT (dPET-CT) using 2-deoxy-2-[(18)F]fluoro-D-glucose ((18)F-FDG) and (18)F-fluoride. *Mol Imaging Biol* 2013; 15: 336-44.

Mohan BG, Shenoy SJ, Babu SS, Varma HK, John A. Strontium calcium phosphate for the repair of leporine (*Oryctolagus cuniculus*) ulna segmental defect. *J Biomed Mater Res A* 2013; 101: 261-71.

Kim A, Kim DH, Song HR, Kang WH, Kim HJ, Lim HC, et al. Repair of rabbit ulna segmental bone defect using freshly isolated adipose-derived stromal vascular fraction. *Cytotherapy* 2012; 14: 296-305.

Schlegel KA, Lang FJ, Donath K, Kulow JT, Wiltfang J. The monocortical critical size bone defect as an alternative experimental model in testing bone substitute materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 7-13.

Liebschner MA. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 2004; 25: 1697-1714.

Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007; 13: 1-10.

Upman PJ. ISO 10993-6: test for local effects after implantation. *Bonezone* 2006; 5: 50-2.

FAGUNDES, Djalma José; TAHA, Murched Omar. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 19, p. 59-65, 2004.

Neyt JG, Buckwalter JA, Carroll NC. Use of animal models in musculoskeletal research. *Iowa Orthop J*. 1998;18:118-23. PMID: 9807717; PMCID: PMC2378160.

Pearce A, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007;13:1-10

Fagundes D, Taha M. Choice's criteria and current animals specimens. *Acta Cir Bras* 2004;19:59-65.



Burkholder, T, Linton, G, Hoyt, RJ. The rabbit as an experimental model. In: Suckow MA, Stevens KA and Wilson RP (editors). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*; 2012.

Wang X, Mabrey JD, Agrawal CM. An interspecies comparison of bone fracture properties. *Biomed Mater Eng*. 1998;8(1):1-9.

Mäkitaipale J, Sievänen H, Laitinen-Vapaavuori O. Tibial bone density, cross-sectional geometry and strength in Finnish PET rabbits: a peripheral quantitative computed tomography study. *Vet Rec* 2018;183:382.

Castañeda S, Largo R, Calvo E, et al. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol*. 2006;35(1):34-41. doi:10.1007/s00256-005-0022-z

Graur D, Duret L, Gouy M. Phylogenetic position of the order Lagomorpha (rabbits, hares and allies). *Nature* 1996;379:333–335.

Gatin L, Saleh-Mghir A, Massin P, Crémieux AC. Critical analysis of experimental models of periprosthetic joint infection. *Orthop Traumatol Surg Res* 2015;101:851–855.

Wancket LM. Animal models for evaluation of bone implants and devices: comparative bone structure and common model uses. *Vet Pathol* 2015;52:842–850.

Li Y, Chen SK, Li L, Qin L, Wang XL, Lai YX. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *J Orthop Translat*. 2015 Jun 16;3(3):95-104. doi: 10.1016/j.jot.2015.05.002. PMID: 30035046; PMCID: PMC5982383.

Masoud I, Shapiro F, Kent R, Moses A. A longitudinal study of the growth of the New Zealand white rabbit: cumulative and biweekly incremental growth rates for body length, body weight, femoral length, and tibial length. *J Orthop Res* 1986;4:221–231.

Chai H, Guo L, Wang X, Fu Y, Guan J *et al*. Antibacterial effect of 317L stainless steel contained copper in prevention of implant-related infection *in vitro* and *in vivo*. *J Mater Sci Mater Med* 2011;22:2525–2535.

Bottagisio M.; Coman C.; Lovati A.B. Animal models of orthopaedic infections. A review of rabbit models used to induce long bone bacterial infections. *Journal of Medical Microbiology* 2019;68:506–537 DOI 10.1099/jmm.0.000952