

DENEY HAYVANLARINDA KIRIK İYİLEŞMESİ MODELLERİ

57 BÖLÜM

Abdullah KÜÇÜKALP

Kırık iyileşmesini araştırmak için birçok hayvan deneyi çalışması yapılmıştır ve bu çalışmalarda değişik hayvanlar oluşturulan farklı kırık modellerinde kullanılmışlardır. Bu çalışmalar insanlarda kırık iyileşmesinin en etkili ve en güvenilir yolunu bulmak için yapılagelmektedir. Boyutlarına ve diğer özelliklerine bağlı olarak ayrı hayvanlar, farklı müdahalelerin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini göstermek için kullanılır. Modellerde kapalı veya açık yollarla veya osteotomiler ile oluşturulmuş kırıklar; normal kırık onarımı için modeller (birincil ve ikincil), gecikmiş kaynama, kaynamama (atrofik ve hipertrofik), parçasal defektler ve sistemik hastalıklara eşlik eden kırıklar araştırılmıştır. Kırık iyileşmesi histolojik, mekanik, kimyasal veya biyolojik çalışmalar ile değerlendirilebilir. İçten tespit, dıştan tespit veya tespit olmayan deneylerde kullanılabilir. Hayvan türleri arasındaki kırık iyileşme çalışmalarının sonuçları, her bir türde aynı model kullanıldığında bile farklı sonuçlar verebilir. Belirli bir çalışmanın sonuçlarını insanlara uygularken hayvan modelinin değerlendirilmesi önemli bir husustur. Bu bölümde biz önce hayvan deneylerinde kullanılan hayvan cinsleri hakkında bilgi verdikten sonra deneysel kırık modelleri inceleyip bu model uygulamalarını güncel literatür çalışmaları ile de-taylandırmaya çalışacağız.

DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN HAYVAN TÜRLERİ

Kırık iyileşmesi modellerinde çeşitli memeli türlerinden kuşlara kadar birçok hayvan kullanılagelmiştir. Güvercinler, fareler, sıçanlar, tavşanlar, kedi, köpek, koyun, keçi, domuz, atlar ve primatlar kullanılmıştır (1-11). Ayrıca balıklarda deneysel kırık modellerinde kendilerine yer bulmuştur (12,13). Türler arasında normal kemik anatomisinde, kırık iyileşmesinde, biyokimyasal yapıda ve biyomekanikte önemli farklılıklar vardır. İnsan doğasını araştıran çalışmalar genellikle küçük hayvanlardan büyük hayvanlara doğru ilerler. O'Loughlin P. F. ve ark. yaptıkları derleme çalışmada kırık çalışmalarında hayvan seçiminin 2008 den önceki 10 yılda %38 Sıçan, %19 tavşan, % 15 fare, % 11 koyun, %9 köpek, %4 keçi ve %4 diğer hayvanların kullanıldığını belirtmişlerdir (14).

Balık

Hızlı iyileşme avantajına sahiptirler ve düşük maliyet ve özellikle yüzgeç kemiklerinin yönlendirilmesi ve kolay görüntülenmesi avantajları vardır. Takeyama. ve ark.ları yaptıkları çalışmada balık yüzgeçlerinde oluşturdukları kırık modelinde elektronmikroskopik inceleme ile erken ve geç uyarılmış osteoklastları fonksiyonları

şak doku ve kırık miktarı ile belirgin olarak gecikmiş metafizeal kırık iyileşmesi gösterirler (68,69). Maymunlarda da overektomi ile deneysel osteoporoz oluşturulup ilaçların etkinlikleri araştırılmaktadır (70).

Çoklu Travma Modelleri

Çoklu travma durumunda vücutta belirgin bir immünolojik yanıt oluşur ve pıhtılaşma sistemleri etkilenir, doku hasarı ve çoklu organ fonksiyon bozukluğuna veya hatta yetmezliğine neden olup enfeksiyonlara karşı artan duyarlılık ortaya çıkar. Çoklu travmanın patofizyolojisini ve mekanizmalarını araştırmak için birçok küçük ve büyük hayvan çoklu travma modeli kullanılmıştır. Küçük ve büyük hayvanlar çoklu travma modelleri; çoklu travmanın mekanizması ve patofizyolojisi yanında tedavi stratejilerinin araştırılması için kullanılmıştır. Çoklu travmada sistemik ve lokal enflamatuar yanıtın kırık iyileşmesini nasıl etkilediği tam olarak açık değildir. Mangum L.H. ve ark.ları yaptıkları deneysel çalışmada politravma (künt toraks travması sonucu akciğer kontüzyonu ve yanık) ve açık femur kırığı ile yalnızca açık femur kırığı oluşturdukları grubu karşılaştırdıklarında çoklu travmalı grupta kaynama ve yara gecikmesi yanı sıra 5 haftalık gözlem sonucunda çoklu travmalı sıçanların eski kondisyonlarına ulaşamadıklarını gözlemlemişler (71). Morioka K. Ve ark.ları yaptıkları deneysel çalışmada kafa travmasının eşlik ettiği çoklu travmalı ve çeşitli kırıkları olan farelerde kafa travmasının kırık iyileşmesini uyardığını gözlemlemişlerdir. Bundkirchen K. Ve ark.ları farelerde yaptıkları çalışmada hemorajik şokun kırık iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir (72). Horst K. Ve ark.ları domuzlarda oluşturdukları akciğer kontüzyonu, karaciğer laserasyonu ve kontrollü kanamalar eşlik eden tibia kırıklarının olduğu deneysel çoklu travma modeli oluşturmuşlar ve travmaya lokal ve sistemik cevabın araştırıldığı ilk makaleyi yazmışlardır (73). Eshbach D. Ve ark.ları yaptıkları çalışmada akciğer kontüzyonu, karaciğer yaralanmasının olduğu;

iki farklı hemorajik şok düzeyine eşlik eden 20 kg ağırlığın 100 cm mesafeden düşürülmesi ile Gustilo Tip 2 açık tibia kırıklı çoklu modelleri oluşturmuşlardır. Yaptıkları çalışmanın çoklu travma ve organ yetmezliğini yansıttığı ve çoklu travmanın tedavi çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir (74).

Sonuç olarak araştırmacılar çalışmayı planladıkları kırık tipi, çalıştığı kurum, maliyet, laboratuvar olanakları, çalışma süresi gibi birçok faktörü hesaba katarak kendilerine en uygun hayvan modelini seçip uluslararası standartlarda kabul edilmiş değerlendirme kriterleri ile değerlendirmeleri durumunda elde edecekleri sonuçlar değerli olacak ve bilim dünyasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kırık İyileşmesi, Hayvan Modeli, Deneysel Çalışma

KAYNAKLAR

1. Wander KW, Schwarz PD, James SP, et al. Fracture healing after stabilization with intramedullary xenograft cortical bone pins: a study in pigeons. *Vet Surg.* 2000;29:237–244. doi: 10.1053/jvet.2000.5608.
2. Preston TJ, Glyde M, Hosgood G, et al. Dual Bone Fixation: A Biomechanical Comparison of 3 Implant Constructs in a Mid-Diaphyseal Fracture Model of the Feline Radius and Ulna. *Vet Surg.* 2016 Apr;45(3):289–94. doi: 10.1111/vsu.12461. Epub 2016 Mar 23.
3. Gallaher HM, Butler JR, Wills RW, et al. Effects of short- and long-term administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on osteotomy healing in dogs. *Vet Surg.* 2019 Oct;48(7):1318–1329. doi: 10.1111/vsu.13282. Epub 2019 Jul 10.
4. Arens D, Wilke M, Calabro L, et al. 2015. A rabbit humerus model of plating and nailing osteosynthesis with and without *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Eur Cell Mater* 30:148–161. DOI:10.22203/eCM.v030a11
5. Grottke O, Braunschweig T, Rossaint R, et al. Transient or extended reversal of apixaban anticoagulation by andexanet alfa is equally effective in a porcine polytrauma model. *Br J Anaesth.* 2019 Aug;123(2):186–195. doi: 10.1016/j.bja.2019.04.059. Epub 2019 Jun 13.
6. Reich KM, Tangl S, Heimerl P, et al. Histomorphometric Analysis of Callus Formation Stimulated by Axial Dynamisation in a Standardised Ovine Osteotomy Model. *Biomed Res Int.* 2019 Feb 12;2019:4250940. doi: 10.1155/2019/4250940. eCollection 2019.
7. Feeney E, Peal BT, Inglis JE, et al. Temporal changes in synovial fluid composition and elastoviscous lubrication in the equine carpal fracture model. *J Orthop Res.* 2019 May;37(5):1071–1079. doi: 10.1002/jor.24281.

- Epub 2019 Mar 28.
8. Kuroiwa Y, Fukui T, Takahara S, et al. Topical cutaneous application of CO₂ accelerates bone healing in a rat femoral defect model. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019 May 22;20(1):237. doi: 10.1186/s12891-019-2601-5.
9. Manabe T, Mori S, Mashiba T, et al. Human parathyroid hormone (1-34) accelerates natural fracture healing process in the femoral osteotomy model of cynomolgus monkeys. *Bone*. 2007 Jun;40(6):1475-82. Epub 2007 Feb 2. PMID: 17369013 DOI: 10.1016/j.bone.2007.01.015
10. Hou T, Li Q, Luo F, et al. Controlled dynamization to enhance reconstruction capacity of tissue-engineered bone in healing critically sized bone defects: an in vivo study in goats. *Tissue Eng Part A*. 2010 Jan;16(1):201-12. doi: 10.1089/ten.TEA.2009.0291.
11. Williams JN, Li Y, Valiya Kambrath A, et al. The Generation of Closed Femoral Fractures in Mice: A Model to Study Bone Healing. *J Vis Exp*. 2018 Aug 16;(138). doi: 10.3791/58122.
12. Takeyama K, Chatani M, Inohaya K, et al. TGF β -2 signaling is essential for osteoblast migration and differentiation during fracture healing in medaka fish. *Bone*. 2016 May;86:68-78. doi: 10.1016/j.bone.2016.03.001. Epub 2016 Mar 4.
13. Takeyama K, Chatani M, Takano Y, et al. In-vivo imaging of the fracture healing in medaka revealed two types of osteoclasts before and after the callus formation by osteoblasts. *Dev Biol*. 2014 Oct 15;394(2):292-304. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.08.007. Epub 2014 Aug 15.
14. Holstein JH, Garcia P, Histing T, et al. Advances in the establishment of defined mouse models for the study of fracture healing and bone regeneration. *J Orthop Trauma*. 2009 May-Jun;23(5 Suppl):S31-8. doi: 10.1097/BOT.0b013e31819f27e5.
15. Nunamaker DM. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 Oct;(355 Suppl):S56-65. PMID: 9917626 DOI: 10.1097/00003086-199810001-00007
16. O'Loughlin PF, Morr S, Bogunovic L, et al.. Selection and development of preclinical models in fracture-healing research. *J Bone Joint Surg Am*. 2008 Feb;90 Suppl 1:79-84. doi: 10.2106/JBJS.G.01585.
17. Cao GL, Tian FM, Liu GY, et al. Strontium Ranelate Combined with Insulin Is as Beneficial as Insulin Alone in Treatment of Fracture Healing in Ovariectomized Diabetic Rats. *Med Sci Monit*. 2018 Sep 17;24:6525-6536. doi: 10.12659/MSM.911573.
18. Meeson R, Moazen M, Sanghani-Kerai A, et al. The influence of gap size on the development of fracture union with a micro external fixator. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019 Nov;99:161-168. doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.07.015. Epub 2019 Jul 19.
19. Metsemakers WJ, Schmid T, Zeiter S, et al. Titanium and steel fracture fixation plates with different surface topographies: Influence on infection rate in a rabbit fracture model. *Injury*. 2016 Mar;47(3):633-9. doi: 10.1016/j.injury.2016.01.011. Epub 2016 Jan 20.
20. Arens D, Wilke M, Calabro L, et al. A rabbit humerus model of plating and nailing osteosynthesis with and without *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Eur Cell Mater*. 2015 Sep 21;30:148-61; discussion 161-2. PMID: 26388617 DOI: 10.22203/ecm.v030a11
21. Ou Z, Cheng Q, Chen Y, et al. Chemical characterization of wound ointment (WO) and its effects on fracture repair: a rabbit model. *Chin Med*. 2017 Oct 30;12:31. doi: 10.1186/s13020-017-0152-y. eCollection 2017. PMID: 29093746 PMCID: PMC5661936
22. Reeve-Johnson L and Schuetz M. "A Review of Major Animal Models Relevant to Contemporary Orthopaedic Repair of the Appendicular Skeleton in Humans". *EC Orthopaedics 4.2* (2016): 483-510.
23. Decker S, Reifernath J, Omar M, et al. Non-osteotomy and osteotomy large animal fracture models in orthopedic trauma research. *Orthop Rev (Pavia)*. 2014 Dec 17;6(4):5575. doi: 10.4081/or.2014.5575. eCollection 2014 Oct 27.
24. Kalbas Y, Qiao Z, Horst K, et al. Early local microcirculation is improved after intramedullary nailing in comparison to external fixation in a porcine model with a femur fracture. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018 Oct;44(5):689-696. doi: 10.1007/s00068-018-0991-y. Epub 2018 Aug 22.
25. Bertocci G, Thompson A, Pierce MC. Femur fracture biomechanics and morphology associated with torsional and bending loading conditions in an in vitro immature porcine model. *J Forensic Leg Med*. 2017 Nov;52:5-11. doi: 10.1016/j.jflm.2017.07.021. Epub 2017 Jul 25.
26. Bryner MF, Hoey SE, Montavon S, et al. Long-term clinical and radiographic results after lag screw osteosynthesis of short incomplete proximal sagittal fractures of the proximal phalanx in horses not used for racing. *Vet Surg*. 2020 Jan;49(1):88-95. doi: 10.1111/vsu.13314. Epub 2019 Aug 21.
27. Mills LA, Simpson AH. In vivo models of bone repair. *J Bone Joint Surg Br*. 2012 Jul;94(7):865-74. doi: 10.1302/0301-620X.94B7.27370.
28. Frink M, Andruszkow H, Zeckey C, et al. Experimental trauma models: an update. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:797383. doi: 10.1155/2011/797383. Epub 2011 Jan 26.
29. Holstein JH, Matthys R, Histing T, et al. Development of a stable closed femoral fracture model in mice. *J Surg Res*. 2009 May 1;153(1):71-5. doi: 10.1016/j.jss.2008.02.042. Epub 2008 Mar 24.
30. R. S. Gilley, L. J. Wallace, C. A. Bourgeault, L. et al. "OP-1 augments glucocorticoid-inhibited fracture healing in a rat fracture model," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, vol. 467, no. 12, pp. 3104-3112, 2009. DOI: 10.1007/s11999-009-0782-1
31. Yoshino O, Brady J, Young K, et al. Reamed locked intramedullary nailing for studying femur fracture and its complications. *Eur Cell Mater*. 2017 Sep 11;34:99-107. doi: 10.22203/eCM.v034a07.
32. Altay MA, Ertürk C, Altay N, et al. Comparison of intracompartmental pressures in a rabbit model of open and closed tibial fractures: an experimental study. *Bone Joint J*. 2013 Jan;95-B(1):111-4. doi: 10.1302/0301-620X.95B1.29504.
33. Decker S, Reifernath J, Omar M, et al. Non-osteotomy

- and osteotomy large animal fracture models in orthopedic trauma research. *Orthop Rev (Pavia)*. 2014 Dec 17;6(4):5575. doi: 10.4081/or.2014.5575. eCollection 2014 Oct 27.
34. Khan SN, Solaris J, Ramsey KE, et al. Identification of novel gene expression in healing fracture callus tissue by DNA microarray. *HSS J*. 2008 Sep;4(2):149-60. doi: 10.1007/s11420-008-9087-2. Epub 2008 Aug 28.
 35. Garcia P, Holstein JH, Histing T, et al. A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice: impact of stability on fracture healing. *J Biomech*. 2008;41(8):1689-96. doi: 10.1016/j.jbiomech.2008.03.010. Epub 2008 May 6.
 36. Connolly CK, Li G, Bunn JR, et al. A reliable externally fixated murine femoral fracture model that accounts for variation in movement between animals. *J Orthop Res*. 2003 Sep;21(5):843-9. DOI: 10.1016/S0736-0266(03)00041-X
 37. Kanazaki S, Miyazaki M, Ishihara T, et al. Enhancement of the effects of intermittent parathyroid hormone (1-34) by bone morphogenetic protein in a rat femoral open fracture model. *J Orthop Surg Res*. 2019 Nov 29;14(1):403. doi: 10.1186/s13018-019-1470-9.
 38. Gürbüz K, Yerer MB, Gürbüz P, et al. Icaritin promotes early and late stages of fracture healing in rats. *Eklemler Hastalıkları Cerrahisi*. 2019 Dec;30(3):282-8. doi: 10.5606/ehc.2019.66796.
 39. Hjorthaug GA, Søreide E, Nordsletten L, et al. Short-term perioperative parecoxib is not detrimental to shaft fracture healing in a rat model. *Bone Joint Res*. 2019 Nov 2;8(10):472-480. doi: 10.1302/2046-3758.810.BJR-2018-0341.R1. eCollection 2019 Oct.
 40. Arens D, Wilke M, Calabro L, et al. A rabbit humerus model of plating and nailing osteosynthesis with and without *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Eur Cell Mater*. 2015 Sep 21;30:148-61; discussion 161-2.
 41. Küçükalp A, Durak K, Bayyurt S, et al. The effect of immunonutrition (glutamine, alanine) on fracture healing. *Food Nutr Res* 2014 Nov .doi.org/10.3402/fnr.v58.24998
 42. Hara Y, Nakamura T, Fukuda H, et al. Changes of biomechanical characteristics of the bone in experimental tibial osteotomy model in the dog. *J Vet Med Sci*. 2003 Jan;65(1):103-7. DOI: 10.1292/jvms.65.103
 43. Garcia P, Histing T, Holstein JH, et al. Rodent animal models of delayed bone healing and non-union formation: a comprehensive review. *Eur Cell Mater*. 2013 Jul 16;26:1-12; discussion 12-4. DOI: 10.22203/ecm.v026a01
 44. Helbig L, Omlor GW, Ivanova A, et al. Bone morphogenetic proteins -7 and -2 in the treatment of delayed osseous union secondary to bacterial osteitis in a rat model. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018 Jul 27;19(1):261. doi: 10.1186/s12891-018-2203-7.
 45. Sawa M, Wakitani S, Kamei N, et al. Local administration of WP9QY (W9) peptide promotes bone formation in a rat femur delayed-union model. *J Bone Miner Metab*. 2018 Jul;36(4):383-391. doi: 10.1007/s00774-017-0852-5. Epub 2017 Jun 28.
 46. Bates BD, Godbout C, Ramnarain DJ, et al. Delayed Endothelial Progenitor Cell Therapy Promotes Bone Defect Repair in a Clinically Relevant Rat Model. *Stem Cells Int*. 2017;2017:7923826. doi: 10.1155/2017/7923826. Epub 2017 Mar 30.
 47. Roberto-Rodrigues M, Fernandes RM, Senos R, et al. Novel rat model of nonunion fracture with vascular deficit. *Injury*. 2015 Apr;46(4):649-54. doi: 10.1016/j.injury.2015.01.033. Epub 2015 Jan 23.
 48. Schmidhammer R, Zandieh S, Mittermayr R, et al. Assessment of bone union/nonunion in an experimental model using microcomputed technology. *J Trauma* 61:199-205. DOI: 10.1097/01.ta.0000195987.57939.7e
 49. Turhan E, Akça MK, Bayar A, et al. A comparison of the effects of platelet-rich plasma and demineralized bone matrix on critical bone defects: An experimental study on rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2017 Mar;23(2):91-99. doi: 10.5505/tjtes.2016.68249.
 50. Garcia P, Herwerth S, Matthys R, et al. The Locking-MouseNail--a new implant for standardized stable osteosynthesis in mice. *J Surg Res*. 2011 Aug;169(2):220-6. doi: 10.1016/j.jss.2009.11.713. Epub 2009 Dec 10.
 51. Gröngroft I, Wissing S, Meesters DM, et al. Development of a novel murine delayed secondary fracture healing in vivo model using periosteal cauterization. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2019 Dec;139(12):1743-1753. doi: 10.1007/s00402-019-03255-y. Epub 2019 Aug 9.
 52. Zhao MD, Huang JS, Zhang XC, et al. Construction of Radial Defect Models in Rabbits to Determine the Critical Size Defects. *PLoS One*. 2016 Jan 5;11(1):e0146301. doi: 10.1371/journal.pone.0146301. eCollection 2016.
 53. Lienau J, Schmidt-Bleek K, Peters A, et al. Insight into the molecular pathophysiology of delayed bone healing in a sheep model. *Tissue Eng Part A*. 2010 Jan;16(1):191-9. doi: 10.1089/ten.TEA.2009.0187.
 54. Haffner-Luntzer M, Hankenson KD, Ignatius A, et al. Review of Animal Models of Comorbidities in Fracture-Healing Research. *J Orthop Res*. 2019 Dec;37(12):2491-2498. doi: 10.1002/jor.24454. Epub 2019 Sep 3.
 55. Lu C, Miclau T, Hu D, et al. Ischemia leads to delayed union during fracture healing: a mouse model. *J Orthop Res*. 2007 Jan;25(1):51-61.
 56. Miedel E, Dishowitz M, Myers MH, et al. Disruption of thrombospondin-2 accelerates ischemic fracture healing. *J Orthop Res*. 2013 Jun;31(6):935-43. doi: 10.1002/jor.22302. Epub 2012 Dec 31.
 57. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Curr Osteoporosis Rep*. 2015 Oct;13(5):327-35. doi: 10.1007/s11914-015-0286-8.
 58. Ay B, Parolia K, Liddell RS, et al. Hyperglycemia compromises Rat Cortical Bone by Increasing Osteocyte Lacunar Density and Decreasing Vascular Canal Volume. *Commun Biol*. 2020 Jan 9;3(1):20. doi: 10.1038/s42003-019-0747-1.
 59. Follak N, Klötting I, Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats. *Diabetes Metab Res Rev*. 2005 May-Jun;21(3):288-96.
 60. Kayal RA, Alblowi J, McKenzie E, et al. Diabetes causes

- the accelerated loss of cartilage during fracture repair which is reversed by insulin treatment. *Bone*. 2009 Feb;44(2):357-63. doi: 10.1016/j.bone.2008.10.042. Epub 2008 Oct 29.
61. Brown ML, Yukata K, Farnsworth CW, et al. Delayed fracture healing and increased callus adiposity in a C57BL/6J murine model of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2014 Jun 9;9(6):e99656. doi: 10.1371/journal.pone.0099656. eCollection 2014.
 62. Park E, Kim J, Yeo S, et al. Anti-Osteoporotic Effects of Combined Extract of Lycii Radicis Cortex and Achyranthes japonica in Osteoblast and Osteoclast Cells and Ovariectomized Mice. *Nutrients*. 2019 Nov 9;11(11). pii: E2716. doi: 10.3390/nu11112716.
 63. Histing T, Klein M, Stieger A, et al. A new model to analyze metaphyseal bone healing in mice. *J Surg Res*. 2012 Dec;178(2):715-21. doi: 10.1016/j.jss.2012.04.007. Epub 2012 Apr 27.
 64. de Mello-Sampayo C, Agripino AA, Stilwell D, et al. Chronic Hyperglycemia Modulates Rat Osteoporotic Cortical Bone Microarchitecture into Less Fragile Structures. *Int J Endocrinol*. 2017;2017:4603247. doi: 10.1155/2017/4603247. Epub 2017 Sep 7.
 65. Uriu K, Morimoto I, Kai K, et al. Uncoupling between bone formation and resorption in ovariectomized rats with chronic cadmium exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000 May 1;164(3):264-72.
 66. Wang ML, Massie J, Perry A, et al. A rat osteoporotic spine model for the evaluation of bioresorbable bone cements. *Spine J*. 2007 Jul-Aug;7(4):466-74. Epub 2007 Apr 6.
 67. Lill CA, Fluegel AK, Schneider E. Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep: a pilot study. *Osteoporos Int*. 2002;13(6):480-6. DOI: 10.1007/s001980200058
 68. Oheim R, Beil FT, Köhne T, et al. Sheep model for osteoporosis: sustainability and biomechanical relevance of low turnover osteoporosis induced by hypothalamic-pituitary disconnection. *J Orthop Res*. 2013 Jul;31(7):1067-74. doi: 10.1002/jor.22327. Epub 2013 Feb 25.
 69. Oheim R, Simon MJK, Steiner M, et al. Sheep model for osteoporosis: The effects of peripheral hormone therapy on centrally induced systemic bone loss in an osteoporotic sheep model. *Injury*. 2017 Apr;48(4):841-848. doi: 10.1016/j.injury.2017.02.009. Epub 2017 Feb 20.
 70. Ominsky MS, Stouch B, Schroeder J, et al. Denosumab, a fully human RANKL antibody, reduced bone turnover markers and increased trabecular and cortical bone mass, density, and strength in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Bone*. 2011 Aug;49(2):162-73. doi: 10.1016/j.bone.2011.04.001. Epub 2011 Apr 9.
 71. Mangum LH, Avila JJ, Hurtgen BJ, et al. Burn and thoracic trauma alters fracture healing, systemic inflammation, and leukocyte kinetics in a rat model of polytrauma. *J Orthop Surg Res*. 2019 Feb 19;14(1):58. doi: 10.1186/s13018-019-1082-4.
 72. Bundkirchen K, Macke C, Reifenrath J, et al. Severe Hemorrhagic Shock Leads to a Delayed Fracture Healing and Decreased Bone Callus Strength in a Mouse Model. *Clin Orthop Relat Res*. 2017 Nov;475(11):2783-2794. doi: 10.1007/s11999-017-5473-8. Epub 2017 Aug 9.
 73. Horst K, Eschbach D, Pfeifer R, et al. Local inflammation in fracture hematoma: results from a combined trauma model in pigs. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:126060. doi: 10.1155/2015/126060. Epub 2015 Jan 28.
 74. Eschbach D, Steinfeldt T, Hildebrand F, et al. A porcine polytrauma model with two different degrees of hemorrhagic shock: outcome related to trauma within the first 48 h. *Eur J Med Res*. 2015 Sep 4;20:73. doi: 10.1186/s40001-015-0162-0.