



Acta Ortopédica Brasileira

ISSN: 1413-7852

actaortopedicabrasileira@uol.com.br

Sociedade Brasileira de Ortopedia e  
Traumatologia  
Brasil

Filho, Salim Mussi; Vidigal, Leandro; Abbud Canova, Rodrigo; da Cruz, Henrique Abreu; Zaniolo, Francisco José; Gomes Vialle, Luiz Roberto  
Estudo experimental dos efeitos da heparina de baixo peso molecular (Enoxaparina) na formação de calo ósseo em fêmures de ratos  
Acta Ortopédica Brasileira, vol. 14, núm. 2, 2006, pp. 78-82  
Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia  
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65714204>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica  
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DA HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR (ENOXAPARINA) NA FORMAÇÃO DE CALO ÓSSEO EM FÊMURES DE RATOS

## THE EFFECTS OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT HEPARIN (ENOXAPARIN) ON BONY CALLUS FORMATION IN RATS' FEMURS – AN EXPERIMENTAL STUDY

SALIM MUSSI FILHO<sup>1</sup>, LEANDRO VIDIGAL<sup>2</sup>, RODRIGO ABBUD CANOVA<sup>2</sup>, HENRIQUE ABREU DA CRUZ<sup>2</sup>, FRANCISCO JOSÉ ZANILOLO<sup>3</sup>, LUIZ ROBERTO GOMES VIALLE<sup>4</sup>;

### RESUMO

O tromboembolismo venoso é uma complicação grave que pode ocorrer após fraturas. O tratamento anticoagulante mais utilizado é com a heparina de baixo peso molecular (HBPM). Existem estudos que mostram que essa droga pode interferir no metabolismo ósseo. Com o objetivo de avaliar a influência da HBPM no processo de formação de calo ósseo, realizamos um estudo experimental em ratos. A amostra constituiu-se de 22 ratos de linhagem Wistar, machos, que foram submetidos à fratura diafisária de seus fêmures direitos. Foram divididos em dois grupos de 11. No grupo controle, os animais recebiam soro fisiológico e no grupo de estudo, recebiam HBPM, enoxaparina, diariamente, por 28 dias. Após este período os ratos foram submetidos à eutanásia e os fêmures foram avaliados. No estudo macroscópico foi constatada consolidação em 11 animais (100%) que não receberam enoxaparina, e, em dez animais (90,9%) que receberam a droga em estudo. No estudo histológico foi constatada a formação de calo ósseo em todos os fêmures. Concluiu-se neste experimento que a enoxaparina não altera o processo de consolidação óssea em fêmures de ratos Wistar.

**Descritores:** Trombose venosa profunda; Fraturas; Heparina de baixo peso molecular; Enoxaparina.

### SUMMARY

Venous thromboembolism is a serious complication that may follow fractures. The most commonly used anticoagulant treatment is low-molecular-weight heparin (LMWH). There are some studies showing that this drug may interfere on bone metabolism. With the objective of evaluating the LMWH influence on the process of bony callus formation, we conducted an experimental study on rats. Sample was constituted of 22 Wistar male rats, which were submitted to diaphyseal fracture on their right femurs. They were divided into two groups of 11 subjects each. In the control group, the animals received saline solution and in the study group, they received LMWH – enoxaparina – in a daily basis, during 28 days. After that period, the rats were submitted to euthanasia for femur assessment purposes. At the macroscopic study, union was verified in 11 animals (100%) not receiving enoxaparina, and in 10 animals (90.9%) receiving the study drug. At the histological study, the formation of bony callus was verified in all femurs. It was concluded by this experiment that enoxaparina does not cause changes on the bone union process in Wistar rats' femurs.

**Keywords:** Venous Thrombosis; Fractures; Heparin, Low-Molecular-Weight; Enoxaparina.

### INTRODUÇÃO

Trombose venosa profunda ocorre em 50% a 70% dos pacientes submetidos à fixação aguda de fraturas do fêmur proximal, nos politraumatizados e naqueles que apresentam trauma raquimedular, quando não é realizada profilaxia<sup>(1)</sup>. A trombose pode ocorrer em qualquer veia do organismo, mas é mais freqüente nos membros inferiores. Esta é a for-

ma de trombose mais importante, tanto em termos de freqüência como em termos de gravidade. Existem fatores que aumentam o risco de trombose venosa profunda, tais como: idade superior a 40 anos, repouso prolongado, cirurgia com duração extensa, complicação de uma cirurgia, anestesia geral, imobilidade, trauma, etc<sup>(2)</sup>. Por isso, medidas profiláticas são realizadas em pacientes com maior

Trabalho realizado no Departamento de Ortopedia e Traumatologia do Hospital Universitário Cajuru da Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Endereço para correspondência: Rua Canadá, 1200, Bacacheri, Curitiba, PR. CEP: 82510-290 - e-mail: salimmussi@hotmail.com

1. Médico Assistente do Serviço de Ortopedia e Traumatologia

2. Residente do Serviço de Ortopedia e Traumatologia

3. Acadêmico do 5º ano

4. Professor Titular

risco de trombose venosa profunda, se colocados nessas condições.

A droga mais estudada e utilizada na trombopprofilaxia é a heparina<sup>(3)</sup>. Dependendo do seu peso molecular, encontra-se na forma de heparina não-fracionada ou de heparina de baixo peso molecular (HBPM). Quando comparadas ao placebo, tanto a heparina não-fracionada quanto a HBPM reduzem a incidência de trombose venosa profunda em 45% dos pacientes submetidos a redução e osteossíntese de fraturas no quadril<sup>(4)</sup>. A HBPM é produzida a partir de fragmentos da heparina padrão, por processos de despolimerizações enzimáticas e químicas, o que diminui o peso molecular em cerca de um terço. Difere da heparina não fracionada por apresentar maior atividade anti-Xa, maior biodisponibilidade com dosagens menores, maior meia vida, maior preditibilidade na resposta anticoagulante quando administrada em dosagens fixas e por não necessitar de controle laboratorial<sup>(5)</sup>. Diversos estudos têm demonstrado que a HBPM é significativamente superior à heparina não fracionada e ao warfarin na prevenção da trombose venosa profunda e do embolismo pulmonar<sup>(4-7)</sup>. As complicações por sangramento são significativamente menores quando comparada à heparina não fracionada e muito menor em relação ao warfarin.

Entretanto, algumas evidências experimentais e clínicas sugerem que a heparina interfere no metabolismo ósseo. Sabe-se que o seu uso prolongado pode levar a uma diminuição da massa óssea em diversas quantidades, culminando até em osteoporose e fraturas patológicas<sup>(8)</sup>. A causa é ainda desconhecida. Alguns autores sugerem que a heparina pode inibir as atividades dos osteoblastos e ativar as atividades dos osteoclastos, o que levaria a perda progressiva da massa óssea. Há teorias sobre a não organização do coágulo existente no foco da fratura ou a inibição das células responsáveis pela consolidação óssea causados pelo uso da heparina, levando a um retardo na consolidação e aumentando o risco de pseudoartrose<sup>(9)</sup>.

Existem poucos trabalhos relatando os efeitos da HBPM em relação ao reparo ósseo após fraturas. Com o intuito de avaliar o efeito dessa droga sobre a formação do calo ósseo, foi realizado um estudo experimental em ratos.

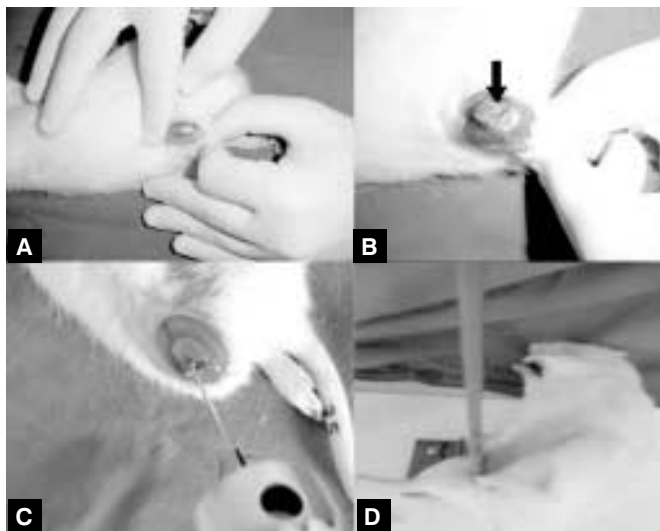
## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 22 ratos de linhagem Wistar, machos, com peso variando

com quatro meses de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas, contendo dois animais cada uma, com alimentação padronizada e com livre acesso a água. Mantidos com controle de luz (ciclo claro-escuro de 12 horas), com temperatura ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade e nível de ruídos mantidos estáveis.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEPA-CCBS-PUCPR) no protocolo 022/03.

Todos os animais foram submetidos à fratura diafisária no fêmur direito. Para isso, foram anestesiados através da administração intraperitoneal de solução composta de cetamina na dosagem de 40 mg/Kg e de xilazina na dosagem de 5 mg/kg de peso corporal diluído em 1 ml de solução salina fisiológica<sup>(10)</sup>. Cinco minutos antes do ato cirúrgico, durante a indução anestésica, era iniciada a administração da droga, ou soro fisiológico ou enoxaparina, as quais eram repetidas diariamente até o momento da eutanásia dos animais. Os animais do grupo I recebiam subcutaneamente, no dorso, soro fisiológico na quantidade de 0,5 ml. Os animais do grupo II recebiam subcutaneamente, no dorso, HBPM (enoxaparina sódica) na dosagem de 1 mg/Kg<sup>(4)</sup>. Uma vez anestesiados, os animais foram posicionados em decúbito dorsal numa mesa cirúrgica, com o membro posterior direito em extensão. Era realizada tricotomia anterior no joelho e posterior no quadril direito, assepsia de todo o membro posterior direito, colocação dos campos cirúrgicos estéreis, e iniciados os seguintes procedimentos (Figura 1): incisão de aproximadamente 2 cm longitudinal anterior no joelho direito; dissecação por planos até a face anterior da patela; incisão no retináculo medial da patela e luxação desta lateralmente; com um introdutor (*abocath* 16 G) fazia-se uma perfuração óssea inicial no espaço intercondi-



**Figura 1** - Principais etapas do procedimento cirúrgico. A) Incisão longitudinal anterior no joelho, com visualização da face anterior da patela. B) Patela luxada lateralmente e visualização do côndilo femoral (seta). C) Passagem do fio de Kirschner 1,0 mm de diâmetro longitudinalmente pelo fêmur. D) Animal experimental posicionado com o

lar; introdução, com um perfurador à bateria, de um fio de Kirschner de 1,0 mm de diâmetro longitudinalmente pelo fêmur até o trocanter maior; perfuração do trocanter maior com este fio de Kirschner e exteriorização na região do quadril, onde era movido de distal para proximal até sua introdução total no fêmur distal; pela região do quadril, o fio de Kirschner era dobrado, cortado e introduzido subcutaneamente; redução da patela. Sutura da pele com fio de nylon 4-0.

Após os procedimentos cirúrgicos, ainda anestesiados, os ratos foram submetidos à fratura diafisária no fêmur direito. Para padro-



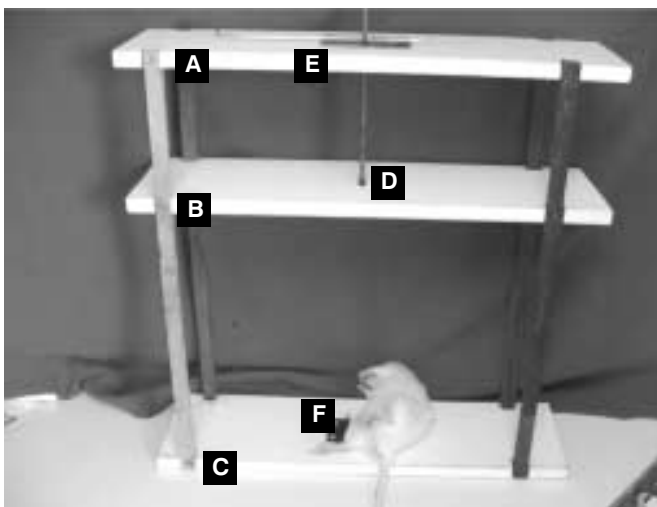
ras, foi utilizado um aparelho chamado Fraturador<sup>(11)</sup>. Este funciona como uma guilhotina romba e é formado por um corpo, um suporte para o animal, um sistema para liberar a barra e uma barra de aço romba de 500 g (Figura 2). O corpo do aparelho consiste de uma base e duas plataformas montadas sobre barras verticais. As duas plataformas têm fendas por onde desce a barra de aço que, por sua vez, é liberada de uma altura de 30 cm através da soltura de uma trava. Sua queda é parada por outra trava; esta limita a queda a 1 mm além do ponto de contato da barra com o fêmur do animal, restringindo, portanto, a deformação angular tanto do osso quanto do fio intramedular. O animal é posicionado em decúbito dorsal, com o membro posterior em abdução e com a região a ser fraturada (diáfise do fêmur) posicionada sobre dois suportes metálicos. Durante sua queda a barra progride no meio das fendas das plataformas, que formam seu ponto de apoio, para manter seu trajeto. Sua excursão termina no meio do diâmetro femoral do rato e no centro dos dois suportes metálicos, formando um sistema de três pontos, produzindo uma fratura fechada e padronizada.

Foram ainda submetidos a radiografias do fêmur direito com um aparelho portátil, com ampola posicionada a 80 cm do chassi e uma carga de 48 mA por 25 watts, para determinar o local e a configuração da fratura (Figura 3). Foi permitido apoio total do membro fraturado no período pós-operatório.

Após quatro semanas, foram submetidos à eutanásia com anestesia intraperitoneal de barbitúrico, finalizando com dose letal de cloreto de potássio.

O estudo da consolidação óssea do fêmur foi realizada por meio das avaliações macroscópica e histológica<sup>(12)</sup>.

A avaliação macroscópica foi realizada com base em parâmetros para a avaliação da consolidação da diáfise femoral. Foi estabelecido como consolidação macroscópica a presença de calo ósseo no foco da fratura e a união entre os fragmentos do fêmur, e como ausência



**Figura 2** - Ilustração do aparelho Fraturador. É formado por três placas de madeira (A, B e C) medindo 12,5 por 45 cm cada, com altura de 30 cm (de B até C) até o local de desprendimento da barra (D), que pesa 500 g e apresenta uma trava na sua porção superior que limita a queda. Uma segunda plataforma a 10 cm (A) da primeira estabiliza a montagem e a barra impactora e contém o dispositivo (E) que libera a barra. O animal fica com o fêmur sobre os dois suportes metálicos (F - conforme figura 3).

de consolidação a ausência de calo ósseo e a não união entre os fragmentos do fêmur.

Na avaliação histológica do calo ósseo, verificava-se a formação de tecido fibroso, tecido cartilaginoso e tecido ósseo. Todas as lâminas foram avaliadas por um mesmo patologista e, este não sabia se o material analisado era do grupo controle ou de estudo. Toda a lâmina era visualizada e então, observava-se a porcentagem de cada tecido. Como parâmetro de avaliação foi realizado estudo comparativo entre os grupos I e II.

Para a comparação dos grupos em relação à presença de consolidação ou

não consolidação (análise macroscópica), foi usado o teste exato de Fisher. Para a comparação da análise microscópica em relação ao percentual de tecido fibroso, cartilaginoso e ósseo, foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## RESULTADOS

Nos 22 animais analisados não encontramos complicações graves relativas ao procedimento cirúrgico e nem durante o período pós-operatório de 28 dias até o momento da eutanásia.

Após o 12º dia de pós-operatório, em média, os animais tinham boa mobilidade do membro posterior direito e se apoiavam com o mesmo durante a locomoção.

A Tabela 1 apresenta os dados da avaliação macroscópica em relação à consolidação ou não das fraturas no fêmur. Não houve diferença estatística entre os dois grupos.

Na avaliação histológica, observou-se formação de calo ósseo em todos os 22 fêmures avaliados. O fêmur que macroscopicamente foi classificado como não consolidado

também apresentou formação de calo ósseo na microscopia. A diáfise femoral apresentava trabeculado ósseo normal e organizado e à medida que se aproximava do foco da fratura este trabeculado já não se encontrava tão organizado e apresentava



**Figura 3** - Radiografias pós-operatórias de fêmures fraturados.

na região central, tecido cartilaginoso e fibroso na maioria dos casos (Figuras 4 e 5).

Na Tabela 2 são apresentados os resultados descritivos e os valores de p, em relação à quantificação histológica da percentagem numérica de cada tipo de tecido: ósseo, cartilaginoso e fibroso.

Analisando esses dados percebemos que estatisticamente não houve diferença entre o grupo controle e o grupo de estudo. Ou seja, na avaliação histológica, a formação de calo ósseo foi semelhante nos dois grupos.

Foram encontrados focos de infecção em quatro fêmures, sendo dois do grupo I e dois do grupo II. Porém, microscopicamente não alteraram a formação do calo ósseo. Em todos este estava presente.

## DISCUSSÃO

Os anticoagulantes devem ser usados de rotina nos pacientes que apresentam fatores de risco para trombose venosa profunda, como naqueles que sofreram fraturas na região pélvica, nos membros inferiores e em politraumatizados. As drogas anticoagulantes vêm-se reciclando rapidamente, sem existir, até o momento, um protocolo aceito e adotado universalmente. A HBPM e o warfarin em baixas dosagens estão sendo utilizados em substituição ao uso tradicional da heparina não fracionada. Tanto a HBPM, quanto o warfarin, representam as drogas mais eficazes no combate à trombose venosa profunda, com a vantagem de aquela não necessitar de controle laboratorial para o ajuste da dosagem<sup>(6,13)</sup>.

O uso da HBPM na trombopprofilaxia diminui o risco de trombose venosa profunda em 45 a 66% e diminui o risco de óbito por tromboembolismo pulmonar em até 50%<sup>(4,6)</sup>. Porém é de suma importância que a trombopprofilaxia seja iniciada precocemente em até 24 horas após o trauma. A demo-  
ra em iniciar a trombopprofilaxia aumenta significativamente o risco de trombose venosa profunda<sup>(7)</sup>. A osteoporose é uma consequência

Grupos	Fratura				Total	
	Consolidada		Não Consolidada		N	%
	N	%	N	%		
Grupo I (controle)	11	100,0	0	0,0	11	100,0
Grupo II (estudo)	10	90,9	1	9,1	11	100,0
Total	21	95,5	1	4,5	22	100,0

Teste de Fisher p=1

**Tabela 1** – Relação macroscópica entre as fraturas femorais consolidadas e não consolidadas.

boflebite imediatamente após a cirurgia. Por este motivo realizaram o primeiro estudo experimental na tentativa de determinar a possibilidade da relação causal entre os anti-coagulantes e a falha na consolidação óssea.

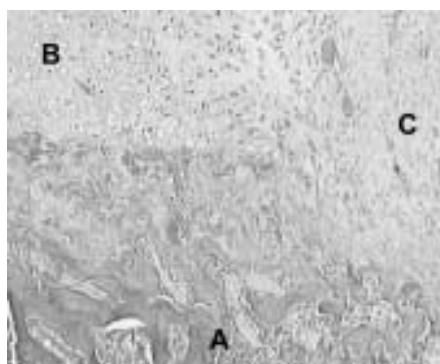
Na prática, a avaliação clínica comparativa da formação do calo ósseo em fraturas apresenta muitas dificuldades, pois há diferenças individuais no que diz respeito à natureza e ao local da lesão, curso e duração da consolidação. E ainda é particularmente difícil estudar os métodos terapêu-

ticos capazes de influenciar a formação do calo ósseo. Assim, é natural que este assunto seja abordado experimentalmente, para podermos comparar de maneira homogênea o material estudado, isto é, as mesmas condições quanto ao sexo, idade, peso, dieta, natureza e localização, tipo e mecanismo causador da fratura.

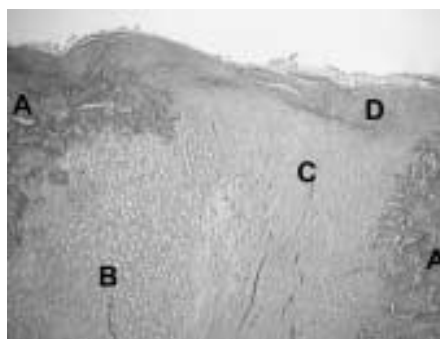
O medicamento utilizado neste experimento com a intenção de se analisar sua possível influência na consolidação das fraturas é a enoxaparina, que é uma heparina de baixo peso molecular. A dosagem utilizada foi semelhante à dosagem profilática utilizada para o humano adulto (1mg/kg/dia)<sup>(4)</sup>. Ajustou-se a dose conforme o peso de cada rato. Todos os ratos foram pesados antes do procedimento cirúrgico e semanalmente.

A realização da anestesia por via peritoneal é a mais usada em ratos<sup>(10)</sup>. Durante o ato anestésico de nosso experimento, não houve complicações ou dificuldades. Portanto, esta via se mostrou eficaz e pode ser utilizada para este tipo de animal.

Para padronizar os tipos de fraturas e evitar que a sua realização pudesse interferir nos resultados de nossa pesquisa utilizamos o Fraturador, que foi desenvolvido por Vialle et al.<sup>(11)</sup>. Com



**Figura 4** - Fotografia ilustrando aspectos histológicos do calo ósseo de um fêmur fraturado após quatro semanas de um rato do grupo controle. Coloração H.E. Aumento 100 vezes. A) Tecido ósseo. B) Tecido cartilaginoso. C) Tecido fibroso.



**Figura 5** - Fotografia ilustrando aspectos histológicos do calo ósseo de um fêmur fraturado após quatro semanas de um rato do grupo de estudo (com heparina). Coloração H.E. Aumento 50 vezes. A) Tecido ósseo. B) Tecido cartilaginoso. C) Tecido fibroso.

fraturas em diáfises femorais em ratos sempre com a mesma força causadora da lesão. A comparação de consolidação de fraturas experimentais exige similaridade, o que se procurou obter neste estudo. Os animais não foram imobilizados, ficando livres para a deambulação conforme o membro posterior permitisse, porque a imobilização era desnecessária.

Segundo Udupa e Prasad<sup>(14)</sup>, as fraturas experimentais nos fêmures de ratos atingem a fase de ossificação em torno da quarta semana de evolução, quando já demonstraram evidências osteogênicas de consolidação. Esses autores definiram quatro fases no processo de consolidação de fraturas em ratos: primeira semana, fase fibroblástica; segunda semana, fase colágena; terceira e quarta semanas, fase osteogênica; e finalmente quinta e sexta semanas, fase de remodelação. Com base nestes dados, a eutanásia foi determinada 28 dias após a realização das fraturas, pois na fase osteogênica ocorre a consolidação propriamente dita e nosso objetivo era avaliar se houve ou não influência da enoxaparina na consolidação óssea.

O único trabalho similar a este encontrado na literatura indexada no *Medline*, que investiga os efeitos da administração trombotrófica da HBPM na consolidação óssea foi de Street et al.<sup>(15)</sup>. Realizaram fraturas fechadas manualmente em costelas de coelhos. Concluíram que o reparo

Variável	Grupo	Mínimo %	Máximo %	Média %	Valor de p
Fibroso	Controle	5	45	20,0	0,2703
	Estudo	0	60	17,3	
Cartilaginoso	Controle	5	20	10,5	0,8470
	Estudo	0	35	12,3	
Ósseo	Controle	45	80	69,5	0,8470
	Estudo	40	90	70,5	

**Tabela 2 – Relação entre tecido fibroso, cartilaginoso e ósseo segundo critérios histológicos.**

ósseo foi significativamente atenuado em todos os animais que receberam enoxaparina subcutaneamente em relação aos animais controle. Porém, difere no tipo de animal, no osso fraturado, no controle da fratura e principalmente no período da avaliação do calo ósseo. Realizaram a avaliação histológica até a segunda semana

após a fratura. Segundo Udupa e Prasad<sup>(14)</sup>, neste período, o calo ósseo ainda se encontra na fase colágena. Preferiu-se estudar a formação do reparo ósseo na fase osteogênica, em volta da quarta semana, pois é neste período que se define se a fratura está ou não consolidada.

Encontrou-se na literatura indícios evidentes nos quais o uso da HBPM retarda o metabolismo ósseo, podendo, em graus mais avançados, evoluir para osteoporose e até para fraturas patológicas.

A ação do uso da HBPM no processo de consolidação óssea ainda é pouco estudada. Poucos trabalhos afirmam que age diminuindo o reparo ósseo. Neste experimento não se pode confirmar esta afirmação, pois não interferiu no processo de consolidação óssea.

## CONCLUSÃO

A heparina de baixo peso molecular (enoxaparina) não influenciou o processo de formação de calo ósseo em fraturas de fêmures em ratos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agnelli G, Cosmi B, Di Filippo P, Ranucci V, Veschi F, Longetti et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of dermatan sulphate for prevention of deep vein thrombosis in hip fracture. *Thromb Haemost.* 1992; 67:203-8.
- Caiafa JS. Trombose venosa profunda e cirurgia. *Rev Col Bras Cirurg.* 1994; 21:340-9.
- Morrison RS, Chassin MR, Siu AL. The medical consultant's role in caring for patients with hip fracture. *Ann Intern Med.* 1998; 12:1010-20.
- Weitz JI. Low-molecular-weight heparins. *N Engl J Med.* 1997; 10:688-99.
- Green D, Hirsh J, Heit J, Prins M, Davidson B, Lensing AW. Low molecular weight heparin: a critical analysis of clinical trials. *Pharmacol Rev.* 1994; 46:89-109.
- Anderson FA, Wheeler HB. Venous thromboembolism. Risks factors and prophylaxis. *J Bone Joint Surg Br.* 2005; 87:209-12.
- Steele N, Dodenhoff RM, Ward AJ, Morse MH. Thromboprophylaxis in pelvic and acetabular trauma surgery. The role of early treatment with low-molecular-weight heparin. *J Bone Joint Surg Br.* 2005; 87:209-12.
- Monreal M, Lafoz E, Olive A, Rio L, Vedia C. Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with low molecular weight heparin (Fragmin®) in patients with orthopedic fractures. *J Bone Joint Surg Am.* 1996; 2:270-82.
- Goss-Sampson MA, Kriss A. Effects of pentobarbital and ketamine-xylazine anaesthesia on somatosensory, brainstem auditory and peripheral sensory-motor responses in the rat. *Lab anim.* 1991; 25:360-6.
- Vialle E, Vialle LR, Boechat R. Produção de fratura padronizada de fêmur em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2004; 39:323-9.
- Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundersen CM. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res.* 1991; 9:383-90.
- Plamer AJ, Koppenhagen K, Kirchhof B, Weber U, Bergemann R. Efficacy and safety of low molecular weight heparin, unfractionated heparin and warfarin for thromboembolism prophylaxis in orthopaedic surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Haemostasis.* 1997; 27:75-84.
- Udupa KN, Prasad GC. Chemical and histochemical studies of organic constituents in fracture repair in rats. *J Bone Joint Surg Br.* 1963; 45:770-9.
- Street JT, Mankin HJ, Williams J, Williams A, Bergmann LP. The effect of heparin on the repair of fractures in the rat. *J Bone Joint Surg Am.* 1963; 45:770-9.