

ROGÉRIO SILVA GUAGNELI

**Propriedades mecânicas do osso esponjoso e cortical do rato, após período de imobilização por aparelho gessado ou suspensão pela cauda**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José B. Volpon

RIBEIRÃO PRETO

2006

**Ficha Catalográfica preparada pela Sessão de Tratamento  
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP**

Guagneli, Rogério Silva

Propriedades mecânicas do osso esponjoso e cortical do rato, após período de imobilização por aparelho gessado ou suspensão pela cauda. Ribeirão Preto, 2006.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2006.

Área Interunidades: Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. José Batista Volpon.

1.Propriedades mecânicas. 2.Imobilização. 3.Suspensão pela Cauda. 4.Osso. I.Título

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, José Augusto e Zenaide, pelo exemplo de dedicação, amor e apoio em todas as etapas da minha vida. À minha irmã, Aline, pelo carinho e compreensão.*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço a Deus, por permitir a conclusão deste trabalho e por estar comigo nos momentos em que precisei.*

*Ao Prof. Dr. José B. Volpon, pela oportunidade deste estudo, pelos ensinamentos e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo.*

*À Lígia, por ser compreensível, pelo apoio em todas as etapas difíceis deste trabalho e carinho sempre presente.*

*Ao Emilson Sodré e ao Maurício Dourado, pela amizade, receptividade, acolhimento e, pelos bons momentos juntos.*

*Aos funcionários do Laboratório de Bioengenharia, Francisco Carlos Mazzocato, Luiz Henrique Alves Pereira e Carlos Alberto Moro, pela disposição e ajuda na realização deste trabalho.*

*À secretária do Laboratório de Bioengenharia, Maria Terezinha de Moraes, pela amizade e auxílio em todos os momentos.*

*Ao Marcos Massao Shimano, pela colaboração em algumas etapas deste trabalho.*

*Ao Otávio Terra Filho, da Oficina de Precisão da Universidade de São Paulo do Campus de Ribeirão Preto, pelos serviços prestados na confecção das peças utilizadas nos ensaios.*

*“O grande segredo é saber quando e qual porta deve ser aberta. A vida não é rigorosa, ela propicia erros e acertos. Os erros podem ser transformados em acertos quando com eles se aprendem. Não existe a segurança do acerto eterno. A vida é generosa a cada sala que se vive, descobrindo assim, tantas outras portas. A vida enriquece quem se arrisca a abrir novas portas”.*

*Içami Tiba*

## RESUMO

GUAGNELI, R. S. *Propriedades Mecânicas do Osso Esponjoso e Cortical do Rato, Após Período de Imobilização por Aparelho Gessado ou Suspensão pela Cauda*. Ribeirão Preto, 70 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

Esta pesquisa analisa o efeito de dois sistemas de restrição de atividade física – imobilização gessada e suspensão pela cauda sobre o osso longo e a vértebra, e compara esses dois modelos com a utilização de algumas propriedades mecânicas que refletem a resistência óssea. Foram utilizadas 36 ratas que, aos 90 dias de idade, foram divididas em três grupos: 10 constituíram o controle (sem tratamento), nove tiveram todo o membro inferior direito imobilizado por três semanas e 12 animais ficaram suspensos pela cauda por três semanas. Cinco animais foram descartados. Ao fim do tempo de observação foram retirados o fêmur e a tíbia do membro posterior direito e a última vértebra lombar. A tíbia foi submetida a ensaio mecânico em três pontos até a fratura. Do fêmur foram retirados corpos de prova retangulares da face anterior do terço médio da diáfise que também foram submetidos a ensaios de flexão em três pontos. Da última vértebra lombar foi obtida uma secção transversal da região média do seu corpo e ensaiada em compressão. Os parâmetros analisados foram carga máxima e tenacidade. Os resultados mostraram que ambos os métodos causaram enfraquecimento do osso longo, embora não tenha sido possível uma comparação precisa entre eles. Entretanto, para o corpo vertebral, a imobilização gessada causou enfraquecimento do osso, enquanto que a suspensão pela cauda causou seu fortalecimento, provavelmente em decorrência de maiores esforços mecânicos aplicados na região ao se manter o animal suspenso.

Palavras-chave: Propriedades Mecânicas; imobilização; suspensão pela cauda; osso.

## ABSTRACT

GUAGNELI, R. S. *Mechanical Properties of the Rat Cancellous and Cortical Bone, after a Period of Immobilization either by Plaster Cast or Tail Suspension*. Ribeirão Preto, 70 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

The effect of two systems of physical restriction – cast immobilization and tail suspension were studied on the rat long bones and vertebra through mechanical tests. Thirty-six 90 days old female rats were used and divided into three groups: ten were allocated do control and did not receive any treatment. Nine rats had the right posterior limb immobilized in a plaster cast and 12 animals were suspended by the tail. The observation period was three weeks for all the animals. After being killed, the right femur, right tibia and the last lombar vertebra were harvested. Three point mechanical compression tests were performed for the entire tibia whereas for the femur samples from the mid-diaphysis were collected and tested in flexion. The vertebrae were tested in compression at the cancellous bone region. The overall results showed that both methods caused a weakening of the long bones although it was not possible to establish a close comparison between them. For the vertebrae, the cast caused their weakening and, conversely, the tail suspension strengthened the cancellous bone. This result was seen as a biological response to an increased mechanical demand that possibly occur in the lombar region in the suspended position.

Key-Words: Mechanical properties; immobilization; tail suspension; bone.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01. Ilustração do animal contido no aparelho gessado que se estendeu da região pélvica até o tornozelo direito.....	28
FIGURA 02. Vista de frente do conjunto composto pelas caixas de acrílico e metálica encaixadas pelas aberturas e formando a gaiola de contenção.....	29
FIGURA 03. (A) Barra retilínea cilíndrica, rosqueada, acessórios compostos por porcas, arruelas e porcas borboletas. (B) Eixo de suspensão montado com todos os acessórios. A presilha central serviu para o acoplamento com o animal. As barras adjacentes (setas) servem para limitar o deslizamento da presilha.....	30
FIGURA 04. Detalhe da presilha que desliza no eixo e serve de acoplamento do animal.....	30
FIGURA 05. Cauda do animal envolvida com espuma adesiva.....	31
FIGURA 06. Preparação do sistema de suspensão. A cauda foi envolvida com faixa elástica adesiva, e a extremidade com esparadrapo e elástico, formando uma alça.....	32
FIGURA 07. Sistema de fixação completo: (A) Cauda do animal envolvida com espuma adesiva e faixa elástica adesiva; (B) Esparadrapo; (C) Fita elástica; (D) Presilha.....	32
FIGURA 08. Vista da gaiola ilustrando todo o sistema de suspensão.....	33
FIGURA 09. Ossos que foram submetidos ao ensaio mecânico. (A) Tíbia direita dissecada; (B) Fêmur direito dissecado; (C) Vértebra dissecada na vista lateral e (D) anterior.....	34
FIGURA 10. Ilustração do fêmur marcado para realizar os cortes. A marcação central corresponde à região central e as duas marcas adjacentes foram feitas.....	35
FIGURA 11. Aspectos da obtenção dos corpos de prova do fêmur. (A) Após ser seccionado transversalmente, o fragmento diafisário é serrado longitudinalmente com dupla serra, de modo a produzir um corpo de prova de 12,0mm de comprimento e 1,4mm de largura, obtido da córtex anterior (B) (seta).....	35
FIGURA 12. (A) Última vértebra lombar presa pelo processo espinhoso, com	



cortes para obtenção da fatia transversal. (B) Corpo de prova de vértebra pronto para o ensaio, formado por um envoltório de osso cortical e osso esponjoso na região cortical.....	36
FIGURA 13. (A) Suporte de base de apoio para as tíbias, com vão de 20 mm. (B) Suporte de base de apoio para corpos de prova do fêmur, com 7,0 mm de vão. (C) Pino de aplicação de carga no corpo de prova da vértebra de 2,0 mm de espessura.....	37
FIGURA 14. (A) Ensaio mecânico em três pontos de tíbia.(B) Ensaio mecânico em três pontos de corpo de prova de fêmur.(C) Ensaio de compressão de corpo de prova de vértebra.....	37
FIGURA 15. Gráfico teórico carga $x$ deflexão, a partir do qual foram obtidas as propriedades mecânicas.....	38
FIGURA 16. Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo controle.....	40
FIGURA 17. Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo gessado.....	40
FIGURA 18. Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo suspenso.....	41
FIGURA 19 Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo controle.....	41
FIGURA 20. Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo gessado.....	42
FIGURA 21. . Curvas carga <i>versus</i> deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo suspenso.....	42
FIGURA 22. Curvas carga <i>versus</i> deformação dos ensaios nos corpos de prova das vértebras do grupo controle.....	43
FIGURA 23. . Curvas carga <i>versus</i> deformação dos ensaios dos corpos de prova das vértebras do grupo gessado.....	43
FIGURA 24. Curvas carga <i>versus</i> deformação dos ensaios dos corpos de prova das vértebras do grupo suspenso.....	44
FIGURA 25. Comparação entre os valores médios da força máxima dos ensaios com a tíbia dos diferentes grupos.....	45

FIGURA 26. Comparação entre os valores médios da tenacidade da tíbia nos diferentes grupos.....	46
FIGURA 27. Comparação entre os valores médios da força máxima aplicada nos corpos de prova de fêmur dos diferentes grupos.....	48
FIGURA 28. Comparação entre os valores médios da tenacidade pelo corpo do prova de fêmur dos diferentes grupos.....	49
FIGURA 29. Comparação entre os valores médios da força máxima aplicada no corpo de prova da vértebra dos diferentes grupos.....	51
FIGURA 30. Comparação entre os valores médios da tenacidade dos corpos de prova da vértebra dos diferentes grupos.....	52

## LISTA DE QUADRO / TABELAS

QUADRO 01. Número de animais por grupo, valores médios da massa corporal e erro padrão da média das ratas no momento do sacrifício.....	39
QUADRO 02. Comparação geral dos resultados das propriedades mecânicas investigadas entre os grupos com nível de significância a 5%.....	53
TABELA 01. Valores da média, desvio padrão e erro padrão da força máxima dos três grupos experimentais das tíbias inteiras.....	44
TABELA 02. Valores da média, desvio padrão e erro padrão da tenacidade dos três grupos experimentais das tíbias inteiras.....	46
TABELA 03. Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da força máxima dos corpos de prova do fêmur.....	47
TABELA 04. Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da tenacidade dos corpos de prova do fêmur .....	49
TABELA 05. Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da força máxima dos corpos de prova da vértebra.....	50
TABELA 06. Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da tenacidade dos corpos de prova da vértebra submetidos a ensaios de compressão.....	52
TABELA 07. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo controle (tíbia).....	65
TABELA 08. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo gessado (tíbia).....	66
TABELA 09. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo suspensão (tíbia).....	66
TABELA 10. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo controle (fêmur).....	67
TABELA 11. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo gessado (fêmur).....	67
TABELA 12. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo suspensão (fêmur).....	68
TABELA 13. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo controle (vértebra).....	68

TABELA 14. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo gessado (vértebra).....	69
TABELA 15. Valores da força máxima e tenacidade de cada animal no grupo suspensão (vértebra).....	70

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
	1.1 Efeitos da imobilização.....	16
	1.2 Efeitos da suspensão.....	20
	1.3 Ensaio mecânico.....	22
2	JUSTIFICATIVA.....	25
3	OBJETIVO.....	26
4	MATERIAL E MÉTODO.....	27
	4.1 Grupos experimentais.....	27
	4.2 Técnica de imobilização gessada.....	28
	4.3 Processo de suspensão.....	29
	4.3.1 Técnica de suspensão.....	31
	4.4 Ensaio mecânico.....	34
	4.4.1 Análise dos parâmetros mecânicos.....	38
	4.5 Análise estatística.....	38
5	RESULTADOS.....	39
	5.1 Curvas (Carga <i>versus</i> Deformação).....	40
	5.2 Análise das propriedades mecânicas das tíbias inteiras.....	44
	5.3 Análise das propriedades mecânicas dos corpos de prova do fêmur.....	47
	5.4 Análise das propriedades mecânicas dos corpos de prova da vértebra.....	50
6	DISCUSSÃO.....	54
7	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
	ANEXOS.....	64

## 1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é uma forma rígida de tecido conjuntivo e está organizado em estruturas definidas: os ossos, que possuem função estrutural e metabólica. A função estrutural representa suporte para o corpo, além proteger as partes moles e, pela ação dos músculos, atua como alavanca que efetua a movimentação dos segmentos corpóreos. Ainda, aloja e protege a medula óssea, formadora de células sanguíneas.

A função metabólica do osso relaciona-se com sua capacidade em servir como depósito e promover a reciclagem do cálcio e outros sais, necessários para a condução nervosa, contração muscular, formação do coágulo e fisiologia celular (COWIN, 1989).

O tecido ósseo é um tipo especializado de conjuntivo, isto é, possui células e matriz óssea calcificada. As células do tecido ósseo são osteócitos, osteoblastos e osteoclastos. Perióstio e endóstio são as membranas conjuntivas que possuem células osteogênicas. As células osteoprogenitoras sofrem mitose para tornarem-se osteoblastos e encontram-se no perióstio, endóstio e canais ósseos que contêm vasos sanguíneos. Os osteócitos são células achatadas na matriz óssea, confinados em espaços lacunares e cada lacuna contém um osteócito e canalículos para trocas metabólicas. Os osteoblastos sintetizam a parte orgânica, não se dividem por mitose, são encontradas na superfície do osso, e quando envolvidos por matriz, tornam-se os osteócitos. Os osteoclastos são células multinucleadas com grande estoque de lisossomos, originam-se de várias células da medula óssea que fundem-se para formar o osteoclasto multinucleado. Secretam ácido, enzimas, colagenase, que atacam o cálcio da matriz. São encontradas na matriz e atuam na reabsorção óssea, com importância no crescimento, desenvolvimento, manutenção e reparo ósseos. Portanto, a remodelação óssea é realizada pelos osteoblastos (formação óssea) e

osteoclastos (reabsorção óssea). A remodelação sempre ocorre na mesma seqüência: uma fase de reabsorção óssea rápida (duas a três semanas) seguida de uma fase de formação óssea mais lenta (dois a três meses). A reabsorção inicia-se quando os osteoclastos ligam-se a uma parte microscópica da superfície do osso. Essa atividade forma um entalhe no osso denominado fissura de reabsorção e, então, os osteoclastos desaparecem, provavelmente em consequência da morte celular programada. A fase de formação óssea da remodelação começa quando os osteoblastos – talvez atraídos por fatores de crescimento liberados durante a reabsorção óssea – convergem para a fissura de reabsorção, preenchendo-a ao sintetizar colágeno e outras proteínas ósseas. Cálcio, fósforo, e outros minerais, então cristalizam-se em torno da matriz de colágeno para formar hidroxiapatita, a parte mais resistente e mineralizada do osso, responsável por 90% da massa óssea (ROSEN, 2003).

Do ponto de vista estrutural, o tecido ósseo pode ser basicamente classificado em cortical (compacto) ou trabecular (esponjoso), com base na porosidade (CARTER & SPENGLER, 1978). Estes dois tipos são formados pela mesma célula e substâncias intercelulares, mas diferem entre si quanto à disposição espacial do trabeculado e à proporção entre espaços medulares e substância óssea. No osso trabecular os espaços medulares são mais amplos e dispostos irregularmente, e a substância óssea é formada por delgadas espículas e trabéculas, dispostas de acordo com as solicitações mecânicas (COWIN, 1989). No osso cortical, os espaços ou canais são estreitos e a substância óssea é densa.

Longos, curtos, chatos e irregulares é outra maneira de classificar os ossos quanto à morfologia. Os ossos longos (fêmur, tíbia, úmero, etc.) têm as extremidades ou epífises formadas por osso trabecular, com uma fina camada superficial de osso cortical. A diáfise (parte cilíndrica central) é quase totalmente composta por osso cortical, com pequena quantidade de osso trabecular na parte interna, além de apresentar amplo canal medular. Nos ossos curtos o interior é

formado por osso trabecular, sendo recobertos em toda a periferia por uma camada de osso cortical. Nos ossos chatos, que constituem a abóbada craniana, as costelas, etc., existem duas camadas de osso cortical, separadas por osso trabecular. Os ossos irregulares são formados internamente por osso trabecular revestido por osso cortical (COWIN, 1989).

Segundo Keller (1986), o sistema esquelético ajusta-se para manter a integridade estrutural dos ossos que está sujeito a várias condições de carregamento mecânico. Conseqüentemente, a resposta estrutural, em parte, deve-se ao histórico de cargas impostas sobre o esqueleto, à necessidade presente, e à antecipação de demandas futuras.

Principalmente em situações patológicas, vários estudos têm se preocupado em caracterizar o osso do ponto de vista mecânico uma vez que o esqueleto funciona como um sistema que suporta cargas e é submetido a um complexo de forças causadoras de deformações (KELLER, 1986).

Desempenhando o aparelho locomotor tão importantes funções mecânicas os materiais biológicos como osso, músculo, tendão e cartilagem, podem ser estudados sob o ponto de vista de resistência de materiais, o que tem importância não somente do ponto de vista de ciência dos materiais, mas também com possíveis aplicações clínicas no sentido de preparar o indivíduo para atividades específicas (GOULD, 1993), bem como atuar tanto terapêutica, quanto preventivamente.

### **1.1. Efeitos da imobilização**

A imobilização é método usado freqüentemente para tratar afecções dos tecidos moles e lesões ósseas, embora possa levar a atrofia destas estruturas, como efeito colateral (PENNOCK et al., 1972; APPEL, 1990). Ela atua tanto causando reabsorção como deprimindo a formação óssea



(especialmente no osso trabecular), o que resulta em osteopenia, isto é, a massa óssea diminui em relação ao volume com alteração simultânea nas propriedades materiais e geométricas do osso (MINAIRE, 1989; DONALDSON et al., 1970; YEH et al., 1973). Estima-se que, aproximadamente 30% do total da perda óssea induzida pela imobilização experimental em ratos seja causada pelo aumento da reabsorção óssea e, aproximadamente, 70% pela diminuição da formação óssea (MINAIRE, 1989; WEINREB, 1989).

Por causa dos rápidos efeitos da ausência de carga no esqueleto, mesmo em curtos períodos de atividade física diminuída, pode surgir enfraquecimento ósseo. Então, tratamentos médicos comuns para doenças músculo-esqueléticas (fraturas, lesão ligamentar, hérnia de disco, recuperação pós-cirúrgica, etc.) que envolvam imobilização temporária por meio de talas, repouso forçado ou tração apresentam probabilidade de criar um problema iatrogênico e risco aumentado de fratura (MAEDA et al., 1993).

Efeitos negativos no equilíbrio do cálcio ocorrem durante a remoção de forças mecânicas em humanos com repouso no leito (WIEL et al., 1991; KESSLER, 2002), desuso por imobilização (WESTLIN, 1974) e vôos espaciais (WRONSKI & MOREY, 1983). A diminuição das forças mecânicas causa redução mensal de 36% na massa dos ossos envolvidos (DONALDSON et al., 1970; CANN et al., 1980; RUBIN, 1985; MINAIRE et al., 1974).

No início da imobilização, a diminuição da solicitação mecânica resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea temporariamente sem oposição. Nos humanos, a perda óssea atinge o limite máximo durante as primeiras seis semanas e, então, é seguida por uma taxa de menor perda. O estado de equilíbrio é alcançado quando a formação óssea neutraliza a reabsorção, mais provavelmente após 5-6 meses (KANNUS et al., 1994).

A porosidade em materiais estruturais exerce forte influência nas propriedades mecânicas (HASHIM, 1962; BROWN, 1964). Dependências similares existem para ossos, sendo que a força

e a rigidez variam inversamente com o aumento de porosidade. Contrariamente, estas propriedades mecânicas melhoram quando a densidade óssea aumenta (GALANTE, 1970; EVANS, 1969; CARTER & HAYES, 1977; MARTIN & BORDMAN, 1994).

Geiser & Trueta (1958) realizaram estudo sobre os fatores responsáveis pela “remoção óssea” em membros imobilizados e coletaram dados para esclarecer o mecanismo de rarefação óssea. Realizaram cinco séries de experimentos em coelhos que foram submetidos à ressecção do tendão calcâneo, o que levou à rarefação óssea no calcâneo de todos os animais. Esses autores encontraram evidências de que a direção e tensão das forças de pressão da ação muscular são transmitidas ao osso, e a presença ou ausência dessas condições regulam o equilíbrio entre a formação e a reabsorção ósseas, acompanhadas por aumento do fluxo vascular local. Sugeriram que a ausência da ação muscular parece ter sido ser o fator mais importante a atuar na indução da atrofia óssea.

Uhthoff & Jaworski (1978) descreveram um modelo de osteoporose por desuso em espécie de animal com estrutura óssea e um sistema de remodelagem esquelética comparável ao do ser humano. Nesse estudo a resposta histodinâmica à imobilização por longo tempo, não traumática, foi estudada em cães adulto-jovens, pela radiomorfometria e histomorfometria e pela marcação da formação óssea pela tetraciclina. O membro anterior direito foi imobilizado em aparelho gessado e o membro contralateral serviu como controle. Os cães foram sacrificados após diferentes semanas, e removidos o terceiro metacarpiano, o rádio a ulna. Os autores propuseram que a massa óssea responde à imobilização por longo tempo em três estágios. No primeiro, há perda mineral rápida, alcançando pico em seis semanas (aproximadamente 16% da massa esquelética original), seguida de reversão rápida, aproximando dos valores do controle entre 8 e 12 semanas. Após esta fase, ocorre perda mais lenta, porém mais duradoura, entre a 24<sup>a</sup> e 32<sup>a</sup> semanas, após a imobilização, tendo o invólucro periosteal como principal contribuinte (80 a 90% da perda total).

Maeda et al. (1993), após imobilizar por 6 semanas a pata traseira de ratos, pelo método de enfaixamento com bandagem elástica, com o quadril em flexão, joelho e tornozelo em extensão, observou que a perda de osso esponjoso foi significativa e caracterizada por diminuição do número de trabéculas.

Kannus et al. (1994) avaliou os efeitos da imobilização, da mobilização livre e dos exercícios com corridas de baixa e alta intensidade em ratos, imobilizando a pata traseira de cada animal até acima do joelho. O joelho foi fixado em flexão e o tornozelo em flexão plantar, de modo que os músculos da panturrilha estivessem relaxados. Após três semanas, o conteúdo mineral do osso foi estudado por meios da absorção de energia dupla de raios-X. Ficou demonstrado que o modelo de imobilização foi efetivo na produção de osteopenia. Todas as diferenças foram altamente significativas, variando de 6,6% (densidade da tíbia) a 12,5% (conteúdo mineral da tíbia).

Kaneps et al. (1997), em trabalhos com cães, analisou o comportamento mecânico do osso cortical e esponjoso, após 16 semanas de imobilização unilateral do membro anterior. Os úmeros foram testados com ensaio de flexão em três pontos até a ruptura do osso. O autor constatou que a densidade óssea mineral, a carga máxima, a carga no limite de proporcionalidade e a rigidez do osso cortical, bem como a tensão de ruptura, a tensão no limite de proporcionalidade e o módulo de elasticidade foram significativamente menores nos membros imobilizados.

Assim, a aplicação de forças mecânicas durante a atividade física representa um estímulo mecânico e causa pequenas deformações na arquitetura óssea, o que estimula a osteogênese. Já, o decréscimo da atividade leva a um processo de reabsorção do osso (HART, et al., 2001; TURNER, 1999).

Issekutz et al. (1996) realizaram 20 experimentos com intervalo mínimo de quatro meses, entre eles, em 14 homens saudáveis, estudantes, com idades entre 18 e 21 anos, submetidos a

dietas controladas, contendo vários níveis de cálcio e pequenas variações no conteúdo das proteínas. Procuraram estabelecer o efeito sobre o cálcio e nitrogênio urinários em pacientes acamados com e sem exercícios, e em pacientes aos quais foram permitido sentar e levantar durante os períodos experimentais. Constataram que a média de produção do cálcio urinário durante o período de controle apresentou grande variação individual e pequena correlação com a ingestão do cálcio. Durante o repouso prolongado no leito pareceu haver perda de cálcio corporal, não acompanhada por aumento da absorção intestinal desse íon. A excreção íon cálcio aumentou mesmo quando os indivíduos foram submetidos a exercícios sentados durante oito horas. Por outro lado, duas horas por dia sentado e quieto ou três horas por dia em ortostatismo, diminuem a excreção de cálcio previamente elevada no repouso. Sugeriam que o efeito do estresse gravitacional no ortostatismo sobre o eixo longitudinal dos ossos longos parece ser o estímulo mínimo para prevenir a perda de matéria óssea. Concluíram que a perda óssea líquida conseqüente à imobilização por tempo prolongado ocorre principalmente no invólucro periosteal, sugerindo a ativação de novos sítios de remodelamento nos três envelopes.

Estudos do efeito do repouso prolongado no leito sobre o metabolismo do cálcio mostraram que o aumento deste íon na excreção urinária, que ocorre durante um confinamento prolongado ao leito não é devido à inatividade, mas sim à ausência de compressão longitudinal sobre os ossos longos, causado pelo tipo de decúbito (ASTRAND et al., 1980).

## **1.2. Efeitos da suspensão**

Com os vôos espaciais de maior duração, foi notado que os astronautas desenvolviam osteopenia importante e, a partir daí, surgiram pesquisas principalmente para estudar seus mecanismos e a maneira de preveni-la. Wronski & Morey (1983), ao analisarem astronautas,

relataram que a falta de gravidade no espaço produziu alterações na homeostasia do cálcio, caracterizadas por balanço negativo, devido basicamente à hipercalciúria, com um conseqüente declínio da densidade mineral óssea, após 84 dias de vôo espacial.

A patogênese da perda mineral ainda é desconhecida, assim como sua reversão após o término do vôo. Embora animais de pequeno porte como ratos tenham sido levados ao espaço com intuito de estudar as alterações ósseas que ocorrem em ambiente de gravidade reduzida, as experiências realizadas em vôos orbitais são muito limitadas. Em vista disso, NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) tem realizado diversos estudos na tentativa de determinar os mecanismos de atrofia muscular e perda óssea que acontecem em indivíduos expostos à microgravidade, tentando simular as condições em vôo espacial (MUSACCHIA et al., 1988).

Vários modelos foram empregados para simular as modificações que acontecem em ambiente de microgravidade como o que ocorre em vôos espaciais. O sistema de elevação pelo corpo e o modelo de suspensão pela cauda do animal são os dois mais utilizados. Kasper et al. (1993) e Musacchia et al. (1983) afirmaram que o modelo ideal seria aquele que permitisse livre mobilidade ao animal, porém com certa restrição aos movimentos dos membros posteriores, ou seja, o modelo de suspensão pela cauda. Nessa situação os membros posteriores dos animais permanecem com livre movimentação, porém sem contato com o solo. Animais que permanecem em situações de microgravidade simulada apresentam alterações fisiológicas semelhantes aos animais que estiveram em vôos espaciais. Portanto, o modelo de suspensão de rato pela cauda é considerado um modelo efetivo para avaliar os mecanismos fisiológicos e celulares do sistema músculo-esquelético, que se alteram em resposta a um novo estímulo (MOREY & GLOBUS, 1998).

Abram, Keller e Spengler (1988) investigaram as mudanças histomorfométricas e mecânicas do osso, que ocorrem sem ação do peso corporal. Estudando membros traseiros

utilizaram três grupos de ratos, sob peso simulado, por períodos de uma, duas e três semanas. Realizaram teste de flexão e torção em fêmures intactos. O grupo experimental exibiu baixa densidade e menores propriedades mecânicas, resultando hipotrofia estrutural.

Em nosso meio, Silva (2002) investigou sobre um modelo de suspensão pela cauda de ratos na tentativa de simular alterações ósseas que possam ocorrer em ambiente de microgravidade. Utilizou ratas fêmeas, separadas em quatro grupos em relação ao período de suspensão: grupo controle, 7, 14, e 21 dias. Foi analisada a tolerância dos animais em relação ao modelo de suspensão proposto e os efeitos sobre a resistência mecânica do complexo tíbia-fíbula, através do ensaio mecânico de três pontos, onde se obtiveram parâmetros mecânicos como limite elástico, limite máximo, rigidez e resiliência. Houve eficácia no modelo de suspensão utilizado, com alterações significativas das propriedades mecânicas do complexo ósseo após 21 dias, com boa adaptação dos animais. Da mesma forma, Lara (2003) observou boa tolerância dos animais no período de 7, 14 e 21 confinados ao sistema de suspensão pela cauda quando realizou um estudo para avaliar as características mecânicas do músculo gastrocnêmio em ratas e sua possível recuperação após 30 dias de natação, através de ensaios de tração, com análise dos valores da carga e deformação no limite da proporcionalidade, carga e deformação máxima e rigidez.

### **1.3. Ensaio mecânico**

Por serem responsáveis, juntamente com os músculos, pela movimentação, sustentação e proteção de órgãos vitais, os ossos estão constantemente sujeitos a esforços de tração, compressão, flexão, torção e, na maioria das vezes, devem suportar uma combinação desses esforços. Portanto, o conhecimento das propriedades mecânicas é útil na avaliação da integridade do osso.

As propriedades dos materiais podem ser determinadas pela observação do comportamento

de estruturas já existentes, porém a forma de maior confiabilidade é realizada por meio de ensaios padronizados, que proporcionam resultados comparáveis e reprodutíveis, os denominados ensaios mecânicos, que podem ser destrutivos, quando promovem a ruptura e ou a inutilização do material, ou não destrutivos, em caso contrário. Na primeira categoria estão classificados os ensaios de tração, impacto, dobramento, flexão, fadiga, compressão e outros. Dentre os ensaios não destrutivos podem ser destacados os raios X, ultra-som, além de outros que podem caracterizar alguma propriedade física por métodos diferentes (SOUZA, 1974).

Do ponto de vista mecânico, o osso pode ser estudado como material (tecido ósseo – corpo de prova) ou como estrutura intacta, sendo que os ensaios têm finalidades distintas (EVANS et al., 1969).

O estudo do osso como estrutura intacta é interessante uma vez que os resultados revelam melhor o desempenho da estrutura como um todo, sua função como alavanca e a capacidade para resistência aos esforços, em várias condições que refletem a solicitação fisiológica (HAYES & CARTES, 1971).

A escolha do ensaio mecânico adequado para cada material depende da finalidade do estudo, dos tipos de esforços que ele sofrerá e das propriedades mecânicas que se desejam medir (SOUZA, 1974).

Quando há interesse no conhecimento das propriedades do material, amostras são retiradas do osso e ensaiadas. Assim, é possível caracterizar o tecido ósseo por meio da curva tensão-deformação. Dependendo do ensaio, podem-se determinar propriedades como o módulo de elasticidade, módulo de cisalhamento, limite de resistência e limite de ruptura. Estes parâmetros são importantes, pois ajudam a caracterizar um elemento biológico que tem grande importância na absorção, transmissão e resistência aos esforços físicos (SEDLIN et al., 1993).

Os ensaios de flexão simples em três pontos permitem testar um corpo de prova que seja constituído por uma barra de secção qualquer. O ensaio consiste em apoiar o corpo de prova sob dois suportes distanciados entre si uma distância  $L$ , sendo a carga de dobramento ou flexão aplicada no centro do corpo de prova (a uma distância  $L/2$  de cada apoio). A cada incremento de carga aplicada ao material é anotada a deflexão correspondente para, depois, ser construído o gráfico carga  $\times$  deflexão (SOUZA, 1974). A partir deste gráfico as seguintes propriedades mecânicas podem ser obtidas: tensão máxima, força máxima, tenacidade e outras.

Os ensaios de compressão consistem em um único esforço solicitante que atua perpendicularmente à secção transversal de um corpo. Esta força está submetida à compressão, conforme o sentido da força normal, ou seja, longitudinal em direção ao centro do corpo de prova; isto possibilita construir uma curva carga  $\times$  deflexão a partir do ensaio em que se apóia um corpo de prova em um plano e se aplica uma força longitudinal (SOUZA, 1974).



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da FMRP-USP (ANEXO - 1). Foram utilizadas ratas matrizes da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), grávidas e prestes a parir, fornecidas pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. Após a parturição foram selecionados seis filhotes fêmeas por ninhada para evitar competição por alimento. Caso não houvesse seis fêmeas, o número de filhotes era complementado com machos, mas que não foram usados no experimento.

Após 21 dias houve o desmame e os animais foram mantidos em gaiolas comuns, no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Ribeirão Preto-USP, em número de cinco em cada uma e, ao atingirem a idade desejada, foram distribuídos em grupos experimentais. Foram oferecidos ração padrão e água, sem restrições.

### 4.1. Grupos Experimentais

Foram utilizados 36 animais que foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais, sendo 12 animais por grupo, conforme o tipo de tratamento. O grupo controle constituído por ratas que não receberam tratamento específico e com características físicas iniciais semelhantes àquelas dos animais tratados, o grupo suspenso permaneceu em suspensão pela cauda durante três semanas, sem apoio nos membros posteriores e o grupo imobilização ficou com o membro posterior direito imobilizado por aparelho gessado, durante três semanas.

Todas as ratas sofreram eutanásia por overdose de anestésico, logo após o período experimental, sendo coletadas as tíbias, os fêmures direitos e a última vértebra lombar de cada animal.

#### 4.2. Técnica de Imobilização Gessada

Nos animais deste grupo o membro posterior direito e pelve foram contidos em aparelho gessado com o quadril mantido em abdução, o joelho em extensão e o tornozelo em flexão plantar. Previamente, os ratos foram anestesiados com “ketapun” (solução de 0,1 ml/100g de ketamina 10% e 0,07 ml/100g de xilazina 2%), aplicado por via intraperitoneal. Depois, a região lombar, pelve e membro posterior direito envolvidos por malha tubular e ataduras de algodão, para prevenir a formação de úlceras de pressão. Foi utilizada atadura gessada de secagem rápida, de 4,0 cm de largura, que foi aplicada de maneira convencional (FIGURA 01). O aparelho gessado foi substituído quando danificado e a imobilização foi mantida por três semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas, dois a dois, com acesso à água e à ração.



Figura 01. Ilustração do animal contido no aparelho gessado que se estendeu da região pélvica até o tornozelo direito.

### 4.3. Processo de Suspensão

Para aplicar a suspensão foi usada uma gaiola especial formada superiormente por um compartimento metálico com 24,0 cm de altura, 35,5 cm de comprimento e 35,5 cm de largura, aberto inferiormente, com encaixes na borda inferior para se acoplar firmemente a outra gaiola, construída em acrílico, com 21,5 cm de altura, 35,0 cm de comprimento e 35,0 cm de largura e aberta superiormente. As duas gaiolas foram encaixadas pelas bordas, formando um compartimento único (FIGURA 02).



Figura 02. Vista do conjunto composto pelas caixas de acrílico e metálica, encaixadas pelas aberturas e, formando o compartimento de contenção.

Uma barra retilínea cilíndrica, rosqueada, de 40,0 cm de comprimento e 4,5 mm de diâmetro foi fixada na grade superior, com vários acessórios compostos por porcas, arruelas e porcas borboletas (FIGURA 03 A e B). O animal foi suspenso por essa barra e a altura foi regulada de forma que a rata não tocasse o assoalho ou as paredes da gaiola com os membros

posteriores, mas tivesse apoio satisfatório com os membros anteriores para a locomoção. Uma presilha metálica foi colocada na região central dessa barra para servir de acoplamento ao sistema de suspensão do animal a ser descrito adiante (FIGURA 04).

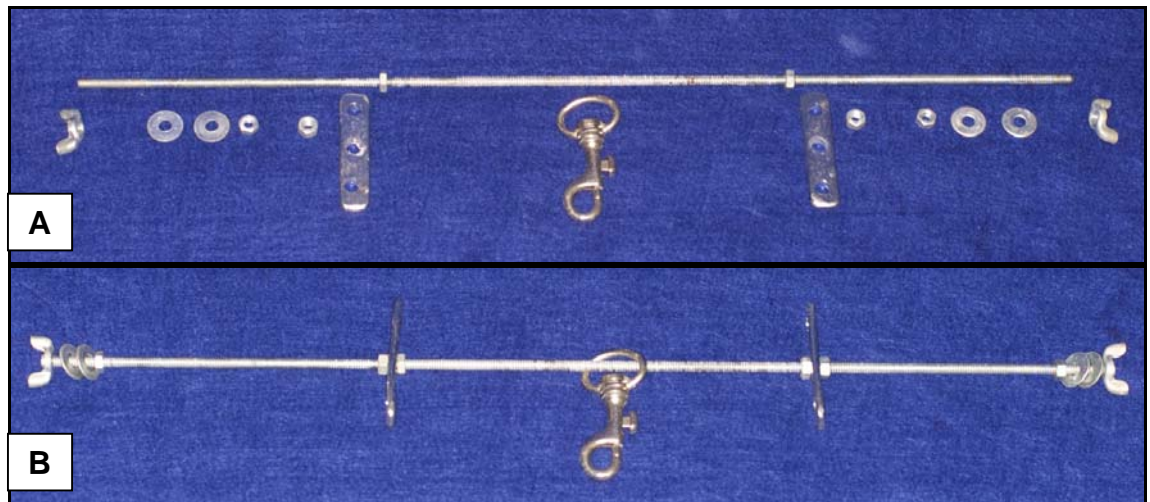


Figura 03. (A) Barra retilínea cilíndrica, rosqueada, acessórios compostos por porcas, arruelas e porcas borboletas. (B) Eixo de suspensão montado com todos os acessórios. A presilha central serviu para o acoplamento com o animal. As barras adjacentes (setas) servem para limitar o deslizamento da presilha.



Figura 04. Detalhe da presilha que se desliza no eixo e serve para acoplamento ao animal.

A excursão de deslizamento da presilha foi determinada em 25 cm e realizada pelo ajuste de uma pequena placa de alumínio em cada lado da barra, fixada com porcas metálicas a 7,5 cm de cada extremidade da haste (FIGURA 03 B).

#### 4.3.1. Técnica de suspensão

Inicialmente, os ratos foram anestesiados com solução de 0,1 ml/100g de ketamina 10% e 0,07 ml/100g de xilazina 2% (*Ketapum*) administrada por via intraperitoneal. A cauda foi lavada com água e detergente, seca e aplicada tintura de benjoim. Os dois terços proximais da cauda foram envolvidos por espuma adesiva (*Reston*<sup>®</sup>), para protegê-la. A extremidade distal da cauda ficou exposta (FIGURA 05).



Figura 05. Cauda do animal envolvida com espuma adesiva.

A espuma adesiva foi envolvida por uma tira elástica adesiva que foi tensionada homogeneamente, e, depois, foi colocada uma fita estreita fixada nas laterais da cauda pela continuação do envoltório da tira elástica adesiva até o final da espuma adesiva, formando uma alça. Foram feitos enfaixamentos adicionais de esparadrapos na extremidade do envoltório para melhor fixação da tira elástica adesiva na espuma. (FIGURA 06).



Figura 06. Preparação do sistema de suspensão. A cauda foi envolvida com faixa elástica adesiva formando uma alça.

Ainda com o animal sob anestesia, a extremidade distal da cauda, que ficou livre do enfaixamento, foi amputada (FIGURA 07).

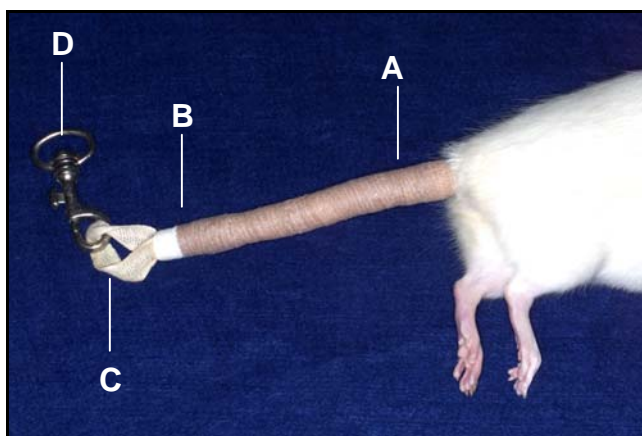


Figura 07. Sistema de fixação completo: (A) Cauda do animal envolvida com espuma adesiva e faixa elástica adesiva; (B) Esparadrapo; (C) Fita elástica; (D) Presilha.

Após a recuperação anestésica, a alça do elástico fixado à cauda do animal foi conectada à presilha da barra de suspensão e a altura foi regulada de modo que o animal pudesse apoiar os membros anteriores, com apoio suficiente para que se locomovesse sem apoiar os membros posteriores. Estes controles foram feitos regulando-se a altura das barras



A ração foi colocada no piso da gaiola que foi forrado com maravalhas, trocadas diariamente. O fornecimento de água foi feito com a colocação de uma garrafa na parede lateral da gaiola inferior (FIGURA 08).



Figura 08. Vista da gaiola ilustrando o animal suspenso.

O espaço interno das gaiolas permitiu a locomoção das ratas que era feita com os membros anteriores uma vez que os membros posteriores estavam suspensos e não tinham apoio no piso da gaiola ou nas paredes laterais.

#### 4.4. Ensaio Mecânico

Para realização dos ensaios mecânicos foi utilizada a máquina universal de ensaios (marca EMIC<sup>®</sup>, modelo DL 10000) no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, equipada com célula de carga de capacidade de 50 kgf.

O sistema foi conectado a um microcomputador e utilizado o *software Tesc<sup>®</sup>* para criar o gráfico carga *versus* deformação.

Previamente, os ratos sofreram eutanásia com dose excessiva de anestésico “ketapun” administrado via intraperitoneal; os membros posteriores e coluna vertebral foram dissecados e isoladas as tíbias direitas (FIGURA 09 A), os fêmures direitos (FIGURA 09 B) e a última vértebra lombar (FIGURA 09 C). Esses ossos foram limpos das partes moles aderentes, identificados, e estocados em “freezer”. As tíbias foram ensaiadas inteiras, mas dos fêmures e vértebras foram retiradas amostras padronizadas (corpos de prova).



Figura 09. Ossos que foram submetidos ao ensaio mecânico. (A) Tíbia direita dissecada; (B) Fêmur direito dissecado; (C) Vértebra dissecada na vista lateral e (D) anterior.

Para obtenção dos corpos de prova os fêmures foram marcados no ponto médio de seu



comprimento e novamente marcados 6,0 mm proximalmente e 6,0 mm distalmente da primeira marcação (FIGURA 10).



Figura 10. Ilustração do fêmur marcado para realizar os cortes. A marcação central corresponde à região central e as duas marcas adjacentes foram feitas.

Depois, cada fêmur foi preso pelos côndilos em uma peça metálica e serrado transversalmente, primeiro na marcação proximal separando o terço proximal do osso que foi desprezado. Em seguida, usando uma dupla serra circular refrigerada a água, com 1,4 mm de distância entre as lâminas, a extremidade do seguimento do fêmur foi seccionada longitudinalmente até a marcação distal que foi, então, serrada transversalmente (FIGURA 11A). Dos fragmentos obtidos, foi selecionado para o ensaio aquele formado pela córtex anterior que resultou um fragmento de 12,0 mm de comprimento e 1,4 mm de largura (FIGURA 11B).

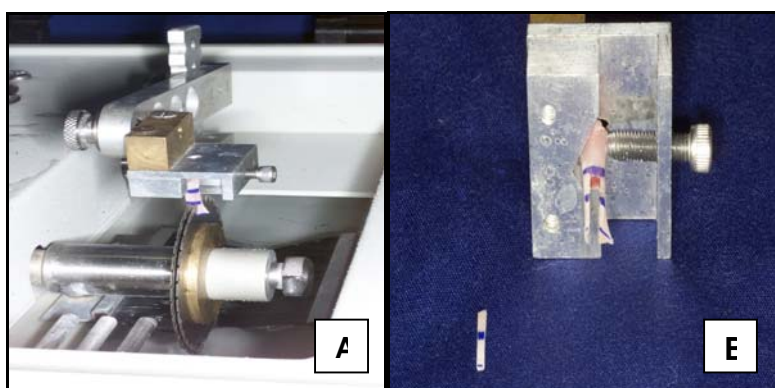


Figura 11. Aspectos da obtenção dos corpos de prova do fêmur. (A) Após ser seccionado transversalmente, o fragmento diafisário é serrado longitudinalmente com dupla serra, de modo a produzir um comro de prova de 12,0 mm de comprimento e 1,4 mm de largura, obtido da córtex anterior (B) (seta).

Para obtenção das amostras das vértebras, elas foram presas e realizados dois cortes transversais no corpo vertebral, com a dupla serra, de modo a produzir um fragmento transversal aproximadamente cilíndrico com 1,4 mm de espessura. (FIGURA 12 A e B). O sentido do corte foi transversal ao corpo vertebral e a localização no limite do terço cranial com o médio.

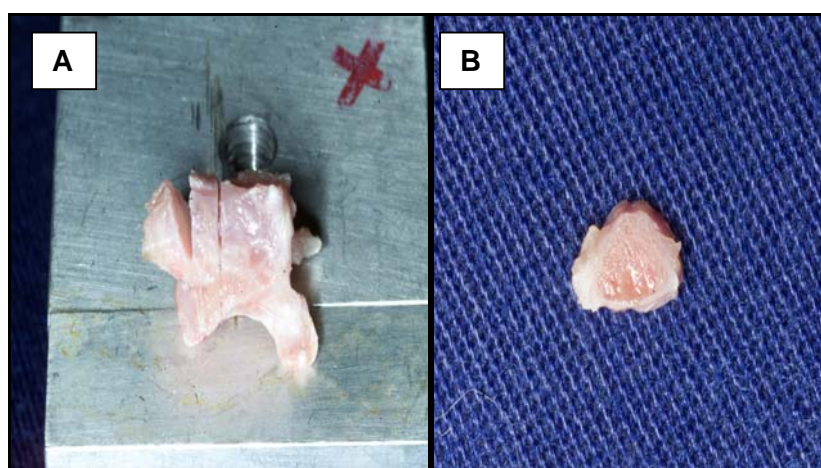


Figura 12. (A) Última vértebra lombar presa pelo processo espinhoso, com cortes para obtenção da fatia transversal. (B) Corpo de prova de vértebra pronto para o ensaio, formado por um envoltório de osso cortical e osso esponjoso na região cortical.

Para os ensaios de flexão da tíbia inteira foi usado um acessório com duas barras de apoio, com vão livre de 20,0 mm (FIGURA 13 A). Para o ensaio dos corpos de prova do fêmur foi usado acessório semelhante, mas com 7,0 mm de vão livre (FIGURA 13 B). Para o ensaio de compressão dos corpos de prova vertebral foi construído um acessório com suporte que continha um pino de 2,0 mm de diâmetro. A finalidade foi aplicar este pino no centro do corpo de prova de modo a comprimir apenas o osso esponjoso (FIGURA 13 C).

As peças metálicas foram confeccionadas pela Oficina Mecânica de Precisão da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto – USP.

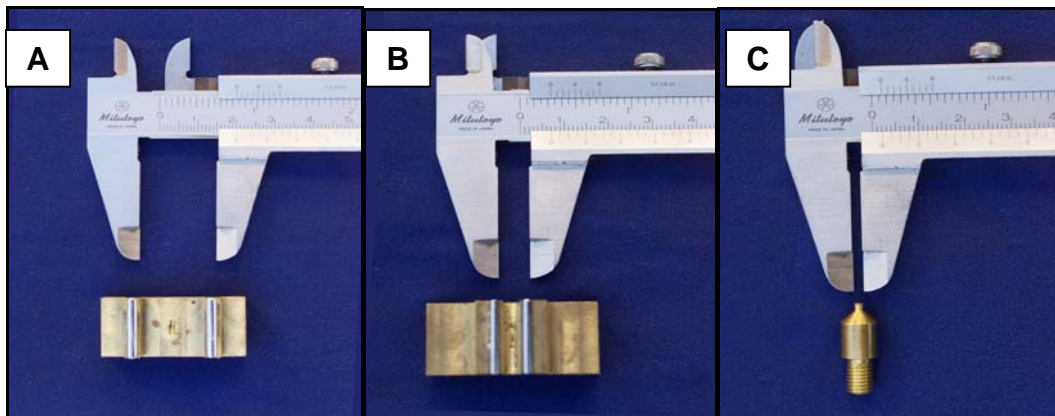


Figura 13. (A) Suporte de base de apoio para as tíbias, com vão de 20,0 mm. (B) Suporte de base de apoio para corpos de prova do fêmur, com 7,0 mm de vão. (C) Pino de aplicação de carga no corpo de prova da vértebra de 2,0 mm de espessura.

Para realização dos ensaios mecânicos de flexão em três pontos foi utilizada a velocidade de aplicação da carga de 0,1mm / minuto. As tíbias foram apoiadas nas regiões metafisárias e a carga foi aplicada no centro da face posterior (FIGURA 14 A). Nos corpos de prova de osso cortical a carga foi aplicada na região central da córtex externa (FIGURA 14 B). Os corpos de prova das vértebras ficaram apoiados em uma plataforma metálica com a face do osso trabecular exposto para aplicação de carga vertical (FIGURA 14 C).

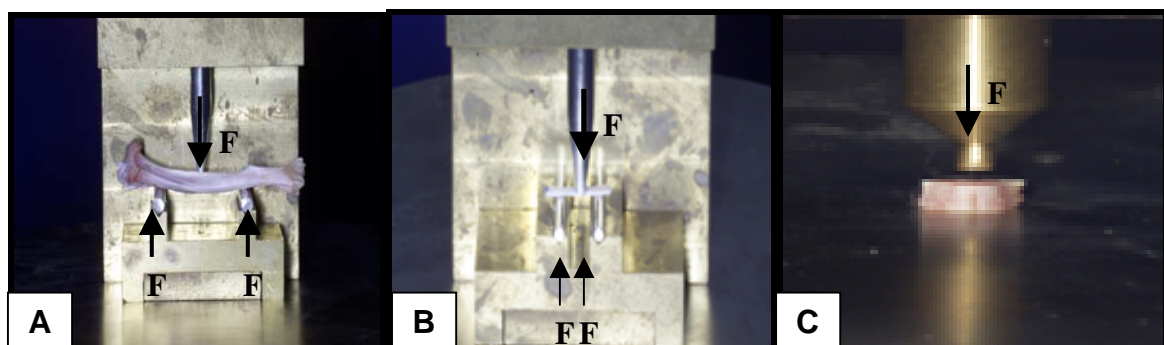


Figura 14. (A) Ensaio mecânico em três pontos de tíbia. (B) Ensaio mecânico em três pontos do corpo de prova de fêmur. (C) Ensaio mecânico de compressão de corpo de prova de vértebra.

#### 4.4.1 Análise dos parâmetros mecânicos:

Para cada ensaio foi construído um gráfico carga x deflexão (FIGURA 15) e, neste gráfico, determinada a carga máxima (CM) que corresponde ao ponto de ruptura da estrutura e obtidas a carga e a deflexão correspondentes..

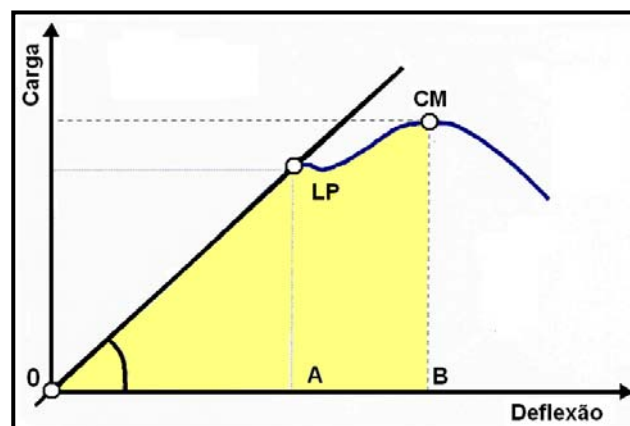


Figura 15. Gráfico teórico carga x deflexão, a partir do qual foram obtidas as propriedades mecânicas.

Foi, também, determinada a área abaixo da linha desde o ponto de origem, até a carga máxima, que corresponde à energia necessária para a quebra do material (tenacidade).

#### 4.5. Análise estatística

A comparação estatística da carga máxima e energia absorvida foi realizada nos três grupos. Por meio do teste de Shapiro-Wilks (indicado para amostras  $< 50$ ) foi testada a normalidade das variáveis carga máxima e tenacidade, sendo que não houve rejeição da hipótese de normalidade. Portanto, foi utilizado o método da análise de variância (ANOVA) com teste *post hoc* de Tukey na análise dos dados, com nível de significância de 5%.

## 5 RESULTADOS

Três animais do grupo imobilizado foram descartados porque poderiam ter permanecido fora do aparelho gessado por mais de 48 horas e duas ratas do grupo controle morreram por razões desconhecidas.

O QUADRO 01 representa o número de animais com os valores das médias da massa corporal e o erro padrão, logo após a eutanásia.

QUADRO 01 – Número de animais por grupo, valores médios da massa corporal e erro padrão da média das ratas no momento do sacrifício.

Grupo	Número de Animais	Média – Massa Corporal (g)	Erro Padrão
Controle	10	260,5	7,01
Gesso	09	269,5	8,36
Suspensão	12	260,6	12,14

### 5.1 Curvas (carga versus deformação)

As curvas carga *versus* deformação das tíbias inteiras das ratas do grupo controle estão apresentadas na FIGURA 16.

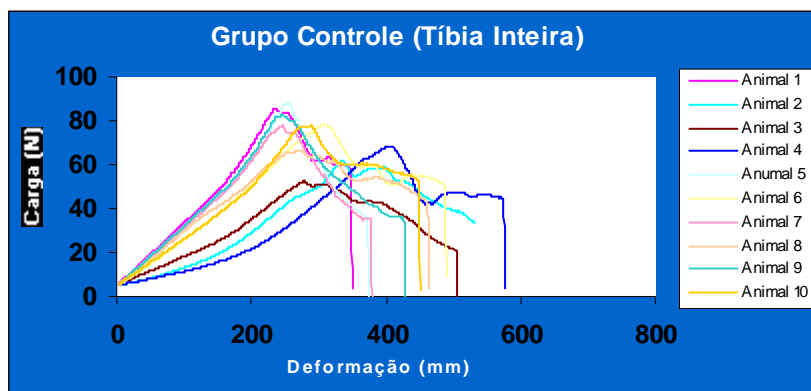


Figura 16. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo controle.

As curvas carga *versus* deformação das tíbias inteiras das ratas do grupo gessado estão apresentadas na FIGURA 17.

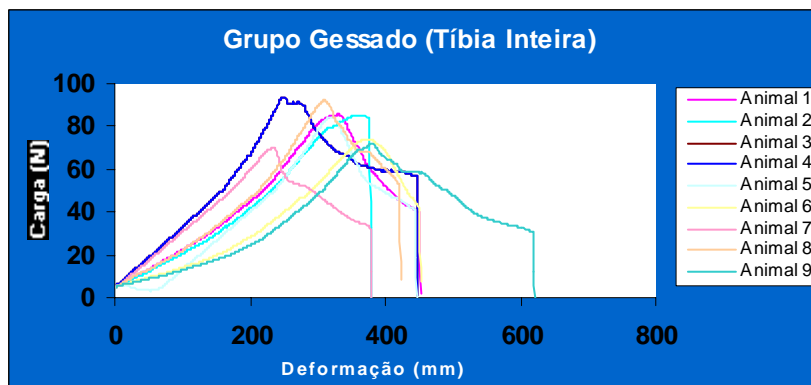


Figura 17. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo gessado.

As curvas carga *versus* deformação das tíbias inteiras das ratas do grupo suspensão estão apresentadas na FIGURA 18.

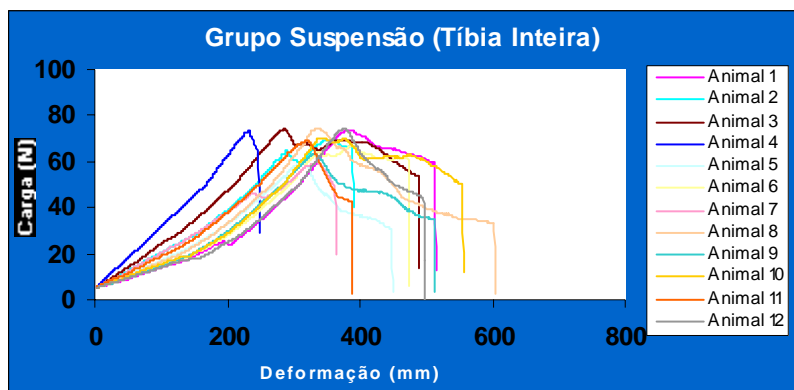


Figura 18. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios das tíbias inteiras do grupo suspenso.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova dos fêmures das ratas do grupo controle estão apresentadas na FIGURA 19.

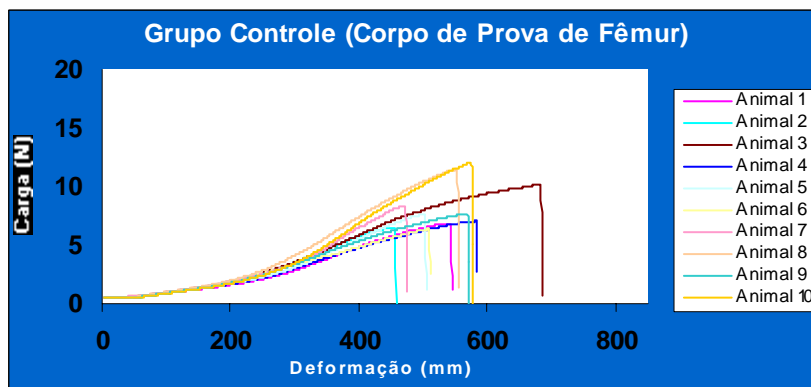


Figura 19. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo controle.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova dos fêmures das ratas do grupo gessado estão apresentadas na FIGURA 20.

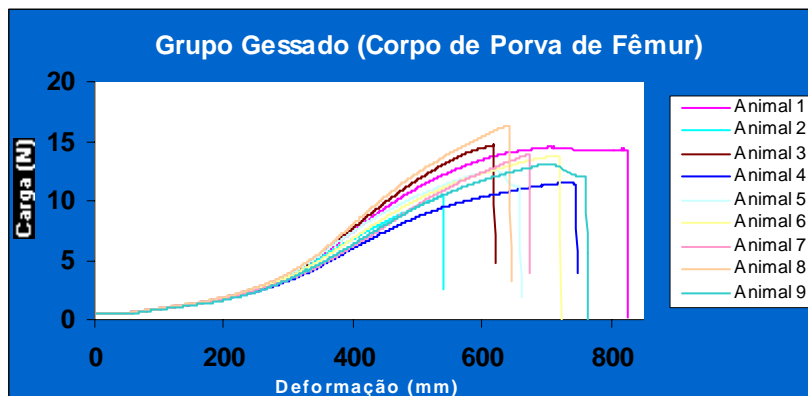


Figura 20. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo gessado.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova dos fêmures das ratas do grupo suspensão estão apresentadas na FIGURA 21.

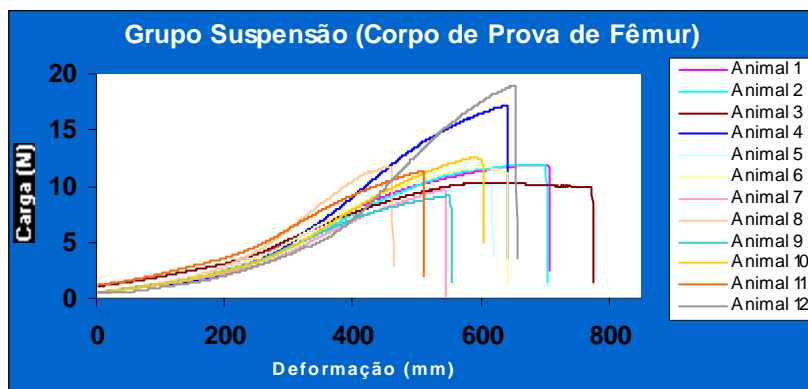


Figura 21. Curvas carga *versus* deformação obtidas dos ensaios dos corpos de prova dos fêmures do grupo suspenso.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova das vértebras das ratas do grupo controle estão apresentadas na FIGURA 22.



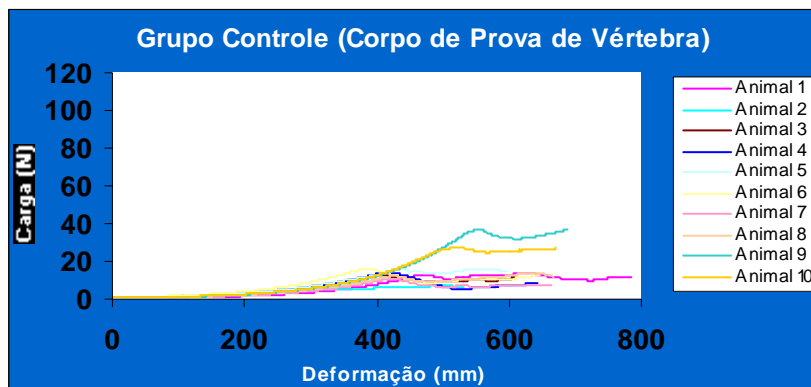


Figura 22. Curvas carga *versus* deformação dos ensaios nos corpos de prova das vértebras do grupo controle.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova das vértebras das ratas do grupo gessado estão apresentadas na FIGURA 23.

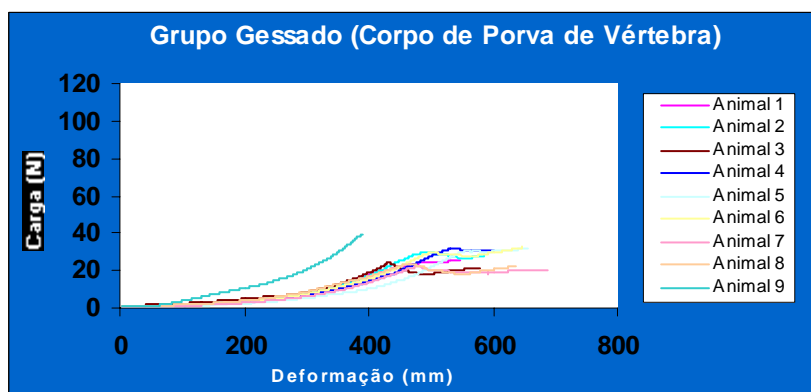


Figura 23. Curvas carga *versus* deformação dos ensaios dos corpos de prova das vértebras do grupo gessado.

As curvas carga *versus* deformação dos corpos de prova das vértebras das ratas do grupo suspensão estão apresentadas na FIGURA 24.

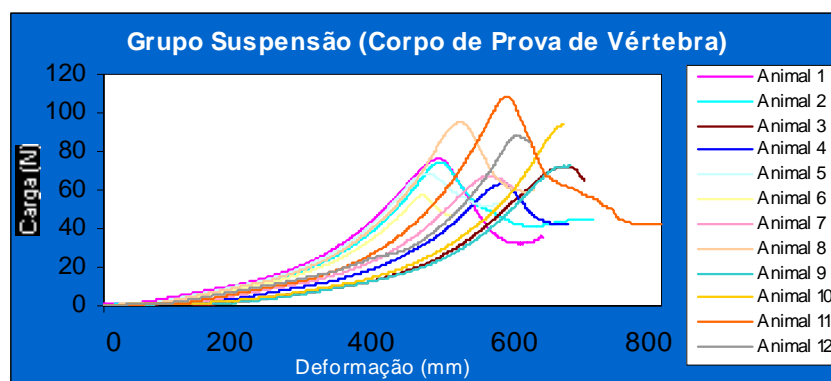


Figura 24. Curvas carga *versus* deformação dos ensaios dos corpos de prova das vértebras do grupo suspenso.

## 5.2 Análise das propriedades mecânicas nas tíbias inteiras

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da força máxima dos grupos controle, gesso e suspensão das tíbias ensaiadas inteiras estão apresentados na TABELA 01. Os valores da força máxima de cada animal estão representados nas tabelas 09, 10 e 11 do ANEXO.

TABELA 01 – Valores da média, desvio padrão e erro padrão da força máxima dos três grupos experimentais das tíbias inteiras.

	Força máxima média (N)	Desvio Padrão	Erro Padrão
Controle	81,38	8,12	2,56
Gesso	73,47	11,77	3,92
Suspensão	69,03	5,60	1,61

Os dados da força máxima das tíbias inteiras foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.

Na análise simultânea dos grupos experimentais houve diferença significativa pela ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores da força máxima dos ensaios de flexão em três pontos para as tíbias estão apresentados na FIGURA 25.

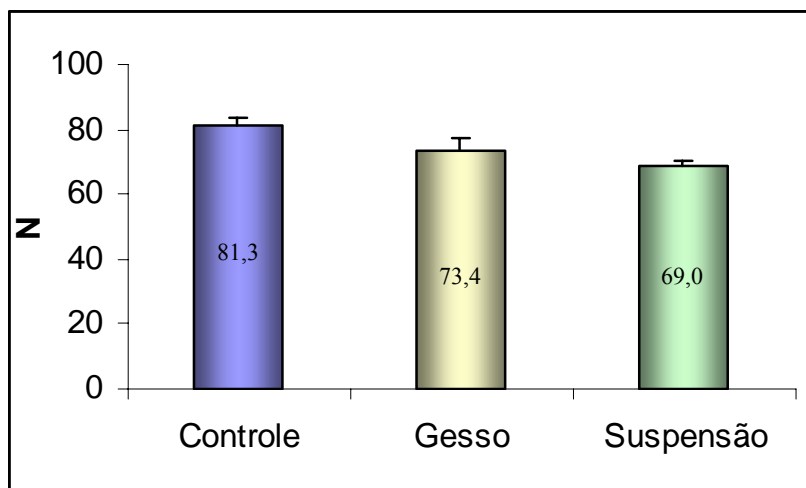


Figura 25. Comparação entre os valores médios da força máxima dos ensaios com a tíbia dos diferentes grupos.

Com o teste *post hoc* de Tukey foi constatado que houve diferença significativa da força máxima aplicada nas tíbias entre os grupos controle e suspensão ( $p=0,045$ ). Entre os grupos controle e gesso não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ), assim como os grupos gesso e suspensão ( $p>0,05$ ).

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da energia absorvida na força máxima dos grupos controle, gesso e suspensão das tíbias inteiras submetidas ao ensaio de flexão estão apresentados na TABELA 02. Os valores da energia absorvida até a força máxima de cada animal estão representados nas tabelas 09, 10 e 11 do ANEXO.

TABELA 02 – Valores da média, desvio padrão e erro padrão da tenacidade dos três grupos experimentais das tíbias inteiras.

	Tenacidade média (N.mm)	Desvio padrão	Erro Padrão
Controle	20,26	4,94	1,56
Gesso	19,46	5,04	1,68
Suspensão	16,13	3,39	0,97

Os dados da tenacidade das tíbias inteiras foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.

Na análise simultânea dos grupos experimentais não houve diferença significativa pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

Os valores da tenacidade dos ensaios de flexão em três pontos para as tíbias estão apresentados na FIGURA 26.

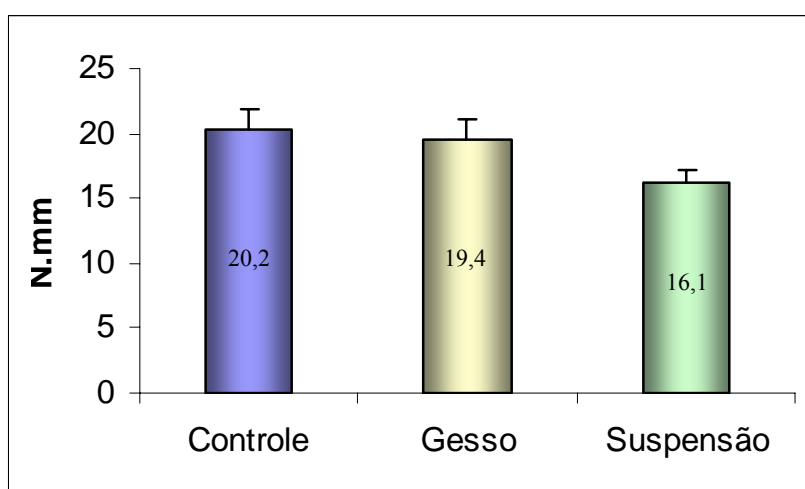


Figura 26. Comparação entre os valores médios da tenacidade da tibia nos diferentes grupos.

Com o teste *post hoc* de Tukey foi constatado que não houve diferença significativa da tenacidade nas tíbias entre os grupos controle, gesso e suspensão ( $p=0,08$ ).

### 5.3 Análise das propriedades mecânicas dos corpos de prova do fêmur

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da força máxima dos grupos controle, gesso e suspensão dos corpos de prova do fêmur estão apresentados na TABELA 03. Os valores da força máxima de cada animal estão representados nas tabelas 12,13 e 14 e do ANEXO.

TABELA 03 – Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da força máxima dos corpos de prova do fêmur.

	Força máxima média (N)	Desvio padrão	Erro Padrão
Controle	13,28	1,72	0,54
Gesso	8,02	1,75	0,58
Suspensão	12,23	2,94	0,85

Os dados da força máxima dos corpos de prova do fêmur foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.

Na análise simultânea dos grupos experimentais houve diferença significativa pela ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores força máxima dos ensaios de flexão em três pontos para os corpos de prova de fêmur estão apresentados na FIGURA 27.

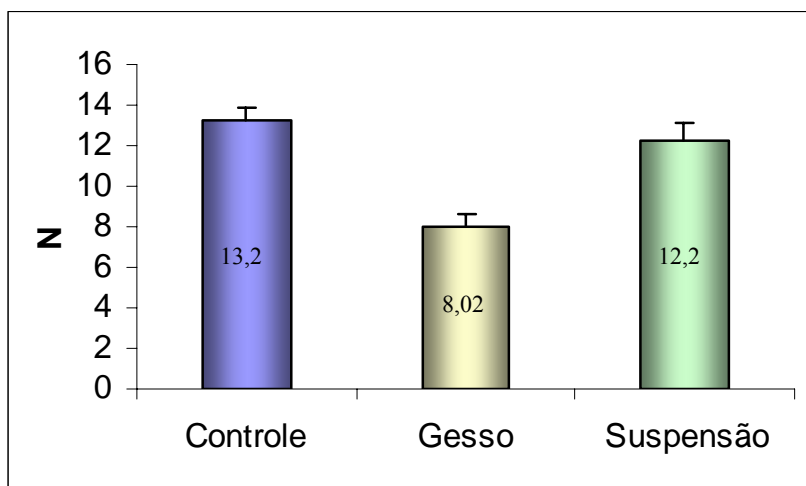


Figura 27. Comparação entre os valores médios da força máxima aplicada nos corpos de prova de fêmur dos diferentes grupos.

O teste *post hoc* de Tukey mostrou que houve diferença significativa da força máxima nos corpos de prova de fêmur entre os grupos controle e gesso ( $p=0,001$ ). Entre os grupos gesso e suspensão também houve diferença significativa ( $p=0,001$ ) e entre os grupos controle e suspensão não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ).

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da energia absorvida até a força máxima dos grupos controle, gesso e suspensão dos corpos de prova de fêmur estão apresentados na TABELA 04. Os valores da energia absorvida até a força máxima de cada animal estão representados nas tabelas 12, 13 e 14 do ANEXO.

TABELA 04 – Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da tenacidade dos corpos de prova do fêmur.

	Tenacidade média (N.mm)	Desvio padrão	Erro Padrão
Controle	2,73	0,69	0,21
Gesso	1,36	0,54	0,18
Suspensão	2,44	0,72	0,20

Os dados da tenacidade dos corpos de prova do fêmur foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.

Na análise simultânea dos grupos experimentais houve diferença significativa pela ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores da tenacidade dos ensaios de flexão em três pontos para os corpos de prova de fêmur estão apresentados na FIGURA 28.

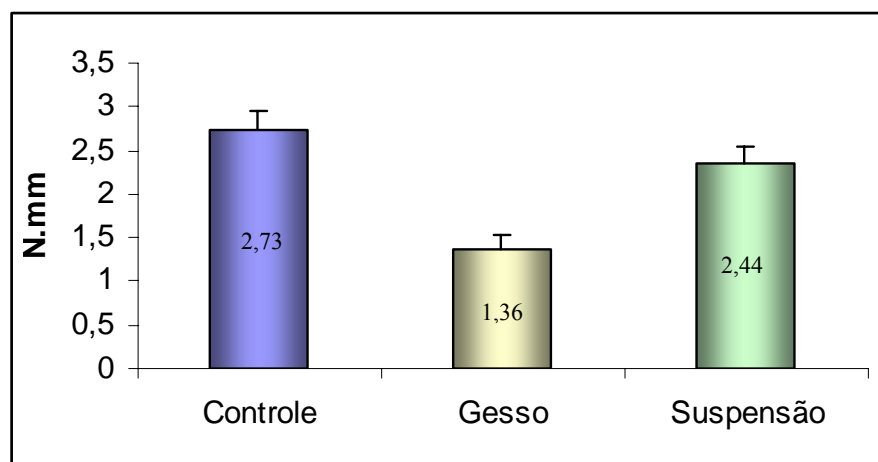


Figura 28. Comparação entre os valores médios tenacidade nos corpos de prova de fêmur dos diferentes grupos.

O teste *post hoc* de Tukey mostrou que houve diferença significativa da tenacidade nos corpos de prova de fêmur entre os grupos controle e gesso ( $p=0,001$ ). Entre os grupos gesso e suspensão também houve diferença significativa ( $p=0,001$ ) e entre os grupos controle e suspensão não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ).

#### 5.4. Análise das propriedades mecânicas dos corpos de prova da vértebra

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da força máxima dos grupos controle, gesso e suspensão dos corpos de prova da vértebra estão apresentados na TABELA 05. Os valores da força máxima de cada animal estão representados nas tabelas 12, 13 e 14 do ANEXO.

TABELA 05 – Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da força máxima dos corpos de prova da vértebra.

	Força máxima média (N)	Desvio padrão	Erro Padrão
Controle	28,72	5,38	1,70
Gesso	15,68	8,37	2,79
Suspensão	78,29	14,85	4,28

Os dados da força máxima dos corpos de prova da vértebra foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.



Na análise simultânea dos grupos experimentais houve diferença significativa pela ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores da força máxima dos ensaios de compressão para os corpos de prova da vértebra estão apresentados na FIGURA 29.

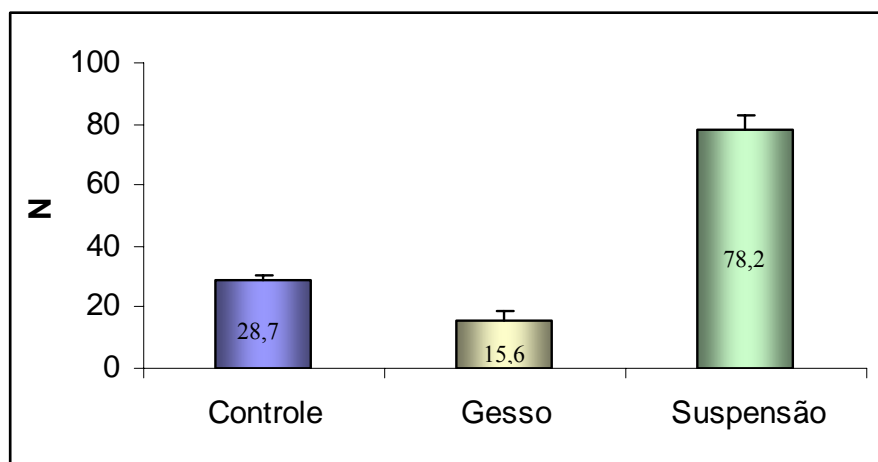


Figura 29. Comparação entre os valores médios da força máxima aplicada nos corpos de prova da vértebra dos diferentes grupos.

Com o teste *post hoc* de Tukey foi constatado que houve diferença significativa da força máxima aplicada nas vértebras entre os grupos controle e gesso ( $p=0,001$ ), controle e suspensão ( $p=0,001$ ) e entre os grupos gesso e suspensão ( $p=0,001$ ).

Os valores da média, desvio padrão e erro padrão da tenacidade dos grupos controle, gesso e suspensão dos corpos de prova da vértebra submetidos a ensaio de compressão estão apresentados na TABELA 06. Os valores tenacidade de cada animal estão representados nas tabelas 15, 16 e 17 do ANEXO.

TABELA 06 – Valores das médias, desvios padrão, erro padrão da tenacidade dos corpos de prova da vértebra submetidos a ensaios de compressão.

	Média (N.mm)	Desvio padrão	Erro Padrão
Controle	2,71	1,64	0,51
Gesso	1,52	0,95	0,31
Suspensão	6,15	2,58	0,74

Os dados da tenacidade dos corpos de prova da vértebra foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilks* e apresentaram distribuição normal sendo, desta forma, realizada a análise estatística paramétrica.

Na análise simultânea dos grupos experimentais houve diferença significativa pela ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores da tenacidade dos ensaios de compressão para os corpos de prova da vértebra estão apresentados na FIGURA 30.

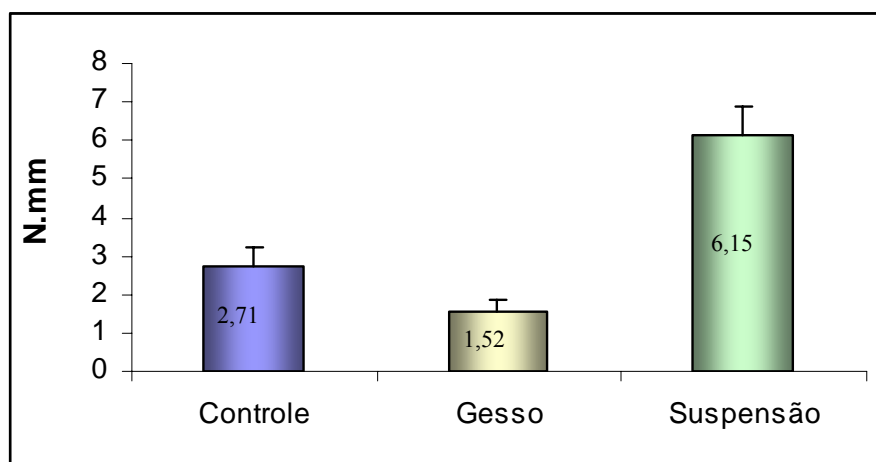


Figura 30. Comparação entre os valores médios da tenacidade dos corpos de prova da vértebra dos diferentes grupos.

Com o teste *post hoc* de Tukey foi constatado que houve diferença significativa da tenacidade nas vértebras entre os grupos controle e suspensão ( $p=0,001$ ). Entre os grupos gesso e suspensão também houve diferença significativa ( $p=0,001$ ), porém entre os grupos controle e gesso não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ).

As comparações gerais entre os grupos estão apresentadas no quadro 02.

QUADRO 02 – Comparação geral dos resultados das propriedades mecânicas investigadas entre os grupos com nível de significância a 5%.

	TÍBIA		FÊMUR		VÉRTEBRA	
	Força máx.	Tenacidade	Força máx.	Tenacidade	Força máx.	Tenacidade
<b>CONTROLE x GESSO</b>	C = G ( $p>0,05$ )	C = G ( $p=0,08$ )	C > G ( $p=0,001$ )	C > G ( $p=0,001$ )	C > G ( $p=0,001$ )	C = G ( $p>0,05$ )
<b>CONTROLE x SUSPENSÃO</b>	C > S ( $p=0,045$ )	C = S ( $p=0,08$ )	C = S ( $p>0,05$ )	C = S ( $p>0,05$ )	C < S ( $p=0,001$ )	C < S ( $p=0,001$ )
<b>GESSO x SUSPENSÃO</b>	G = S ( $p>0,05$ )	G = S ( $p=0,08$ )	G < S ( $p=0,001$ )	G < S ( $p=0,001$ )	G < S ( $p=0,001$ )	G < S ( $p=0,001$ )

C = grupo controle; G = grupo gesso; S = grupo suspensão.