

**EFEITOS DA IMOBILIZAÇÃO E REMOBILIZAÇÃO
EM ALGUMAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO
OSSO**

**MARIA ELOISA BORGES JUNQUEIRA DE MATTOS
FRATESCHI**

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
2002

FICHA CATALOGRÁFICA

Frateschi, Maria Eloísa Borges Junqueira de Mattos
Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso / Maria Eloísa Borges Junqueira de Mattos Frateschi. -- São Carlos, 2002.

Dissertação (Mestrado) -- Interunidades Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2002.

Área: Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. José B. Volpon.

1.Imobilização. 2.Remobilização. 3.Propriedades
mecânicas. 4.Tíbia. 5.Ratos. I.Título

Ao meu esposo Marcos, pelo incentivo constante, aos meus filhos Carolina e Eduardo pela tolerância e compreensão, a minha irmã Dione pela amizade e apoio.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. *José B. Volpon*, pelos ensinamentos, incentivo, compreensão e ajuda fundamental para o desenvolvimento deste trabalho e da aluna;

Ao Dr. *Antônio C. Shimano* pela dedicação, orientação e ensinamentos que ajudaram na formação do trabalho;

Ao Prof. Dr. *José B. P. Paulin*, pelas orientações e pela acolhida ao laboratório;

A aluna *Claudia Mathias Marcos de Carvalho*, pelo apoio, pela amizade inestimável;

Aos funcionários do laboratório : Eng. *Moro, Francisco, Luiz Henrique, Terezinha*, pela amizade, apoio e dedicação;

Aos amigos especiais, *Marcos e Adriano*, pela ajuda e colaboração;

Aos amigos, *Vanessa, Rita, Vitor, Cristina, Djalma, Beth, Carmen, Renato e Valdeci* pela amizade;

À secretária do Laboratório de Bioengenharia da EESC-USP, *Janete dos Santos*, pela dedicação e cordialidade no atendimento aos pós-graduandos.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO¹

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| LISTA DE FIGURAS | I |
| LISTA DE TABELAS | II |
| RESUMO..... | III |
| ABSTRACT..... | IV |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 Efeitos da imobilização em algumas propriedades mecânicas do osso..... | 2 |
| 1.2 Efeitos da remobilização em algumas propriedades do osso após período de imobilização..... | 5 |
| 1.3 Ensaio mecânico..... | 6 |
| 1.4 Objetivo | 11 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 12 |
| 2.1 Animais..... | 12 |
| 2.2 Grupos experimentais..... | 12 |
| 2.3 Imobilização..... | 13 |
| 2.4 Coleta de material..... | 14 |
| 2.5 Treinamento | 15 |
| 2.6 Ensaio mecânico de flexão | 18 |
| 2.7 Análise estatística..... | 22 |
| 3 RESULTADOS..... | 23 |
| 4 DISCUSSÃO | 37 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 45 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 46 |
| ANEXOS..... | 51 |

¹ Normas de acordo com as diretrizes para elaboração de dissertações e teses na EESC-USP, 2ª ed.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 – Rato com o membro posterior direito imobilizado pelo aparelho gessado..... | 14 |
| FIGURA 2 – Tíbia e fíbula dissecadas..... | 15 |
| FIGURA 3 – Desenho esquemático do reservatório de água usado para realização dos exercícios. Reservatório (A), aquecedor (B) e bomba de água (C). | 16 |
| FIGURA 4 – Cinta elástica adaptada com pesos de chumbo para ser presa no tórax do animal com o objetivo de aumentar o esforço durante a natação..... | 17 |
| FIGURA 5 – Exercícios de natação no tanque..... | 17 |
| FIGURA 6 – Detalhe do posicionamento da tíbia com a fíbula no acessório para o ensaio mecânico. O vão entre os apoios foi de 32 mm. | 19 |
| FIGURA 7 – Ensaio de flexão em três pontos. Montagem para o ensaio em tíbia e fíbula de ratos (A); posicionamento da tíbia no acessório (B); tíbia fraturada após ensaio (C). | 20 |
| FIGURA 8 – Gráfico carga x deflexão, a partir do qual são obtidas as principais propriedades mecânicas do ensaio de flexão em três pontos..... | 21 |
| FIGURA 9 – Peso dos animais. Média do peso inicial dos animais de todos os grupos (A); Média do peso dos animais após 3 semanas de imobilização dos grupos Controle 1 e Imobilizado (B); Média do peso dos animais após 4 semanas de treinamento e liberação dos grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado (C). | 24 |
| FIGURA 10 – Média do peso das peças (tíbia e fíbula) dos animais após 3 semanas de imobilização dos grupos Controle 1 e Imobilizado (A) e, das peças dos animais após 4 semanas de treinamento e liberação dos grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado (B). | 25 |
| FIGURA 11 - Curvas carga x deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Controle 1. | 27 |
| FIGURA 12 - Curvas carga x deflexão dos 10 ossos analisados do grupo Imobilizado e sacrificados imediatamente após a retirada da imobilização. | 27 |
| FIGURA 13 - Curvas carga x deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Controle 2. | 28 |
| FIGURA 14 - Curvas carga x deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Imobilizado e treinado após a retirada da imobilização. | 28 |
| FIGURA 15 - Curvas carga x deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Imobilizado e não treinado após a retirada da imobilização. | 29 |
| FIGURA 16 - Comparação entre os valores médios da carga do limite máximo nos diferentes grupos..... | 30 |
| FIGURA 17 - Comparação entre os valores médios da deflexão do limite máximo nos diferentes grupos. | 31 |
| FIGURA 18 - Comparação entre os valores médios da carga do limite elástico nos diferentes grupos..... | 32 |
| FIGURA 19 - Comparação entre os valores médios da deflexão do limite elástico nos diferentes grupos | 33 |
| FIGURA 20 - Comparação entre os valores médios da rigidez nos diferentes grupos..... | 34 |
| FIGURA 21 - Comparação entre os valores médios da resiliência nos diferentes grupos..... | 35 |
| FIGURA 22 – Curvas representando as médias para cada grupo. O primeiro ponto mostra o limite de proporcionalidade e, o segundo, o limite máximo para os diferentes grupos experimentais. | 36 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1 – Média do peso corporal inicial e final dos animais de cada grupo. | 23 |
| TABELA 2 – Valores médios do peso das peças. | 23 |
| TABELA 3 – Valores das médias e desvios padrão das propriedades mecânicas das peças dos animais dos grupos experimentais. | 29 |

RESUMO

FRATESCHI, M.E.B.J (2002). *Efeitos da imobilização e da remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso*. Ribeirão Preto, 2002. 59p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Foi estudada a influência da imobilização, remobilização livre e remobilização com treinamento físico sobre algumas propriedades mecânicas do osso. O limite máximo, limite proporcional, rigidez e resiliência foram obtidos a partir de ensaio de flexão em três pontos. Foram utilizados os ossos tibia-fíbula de 46 ratas fêmeas albinas, da variedade *Wistar*, divididas em 5 grupos. Dois grupos foram utilizados como controle. Três grupos tiveram o membro posterior direito imobilizado com aparelho de gesso por três semanas. Destes, um grupo foi sacrificado logo após a retirada da imobilização, outro foi submetido a período de remobilização livre e, o terceiro, a remobilização com treinamento físico, modalidade natação por quatro semanas. Houve redução significativa das propriedades mecânicas para os ossos submetidos à imobilização. A remobilização constituída por exercitação mostrou ser eficaz, devolvendo ao osso suas propriedades mecânicas. E a remobilização livre também devolveu ao osso suas propriedades mecânicas.

Palavras-chave: Osso; imobilização; rato; exercício; propriedades mecânicas.

ABSTRACT

FRATESCHI, M.E.B.J.M. (2002). *Effects of immobilization and physical training on the mechanical properties of the bone*. Ribeirão Preto, 2001. 59p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

The influence of immobilization, free remobilization and remobilization followed by physical training on the mechanical properties of the bone was studied in rats. The right bones tibia and fíbula were tested in three-point bending test and the following mechanical parameters were obtained: ultimate limit, elastic limit, stiffness and resilience. Forty-six adult female Wistar rats were used and divided in five groups. Two groups were kept as a control and consisted of non-immobilized animals. The three other groups had the right hind limb immobilized in a spica cast during three weeks. In these three groups the animals were exercised with swimming after the immobilization period, during four weeks. Our results showed that there was a remarkable decrease of mechanical parameters with the immobilization. All trained animals showed a statistically significant recovery of the stiffness. With the remobilization composed by exercising the bone recovered the normal parameters.

Key-words: bone; immobilization; rat; exercise; mechanical properties.

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é o principal constituinte do esqueleto, serve de suporte para as partes moles e protege os órgãos vitais, como os contidos na caixa craniana, torácica e canal raquidiano. Aloja e protege a medula, formadora das células do sangue. Proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis, e constitui um sistema de alavanca que amplia as forças geradas pela contração muscular. Além dessas funções, os ossos também funcionam como depósito de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os ou liberando-os de maneira controlada, para manter constante a concentração desses importantes constituintes nos líquidos corporais (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999).

Os ossos corticais de diferentes espécies apresentam propriedades mecânicas diferentes, sendo as diferenças causadas pela organização local e por variações na composição (MARTIN, 1994).

O osso é formado por tecido compacto e esponjoso. O osso compacto denso e a malha trabecular do osso esponjoso são tecidos capazes de resistir à tração, compressão e forças cortantes, normalmente ao mesmo tempo. Segundo a lei de Wolff, o osso é um tecido dinâmico capaz de se modelar de acordo com as pressões (ou falta de pressão) aplicada a ele. O apoio de carga ou peso e a contração muscular são duas forças que desempenham o papel importante na modelagem do osso. O exercício ativo pode aumentar ou diminuir o peso, o comprimento e a densidade óssea, dependendo da idade da pessoa e da intensidade do exercício. A falta de exercícios decorrente do desuso, imobilidade, fraqueza ou lesão neuromuscular também afeta o osso. A reabsorção óssea em oposição a uma diminuição na

formação óssea pode ser responsável pela perda da densidade constatada pelo desuso (CORNWALL, 1984).

1.1 Efeitos da imobilização em algumas propriedades mecânicas do osso

A imobilização é um tratamento usado freqüentemente para tratar afecções dos tecidos moles e doenças ósseas, a despeito dos efeitos colaterais, causando atrofia óssea e muscular (PENNOCK et al., 1972; APPEL, 1990). A imobilização permite a reabsorção óssea e deprime a formação óssea (especialmente no osso trabecular), resultando em osteoporose, isto é, a massa óssea diminui com relação ao seu volume com alteração simultânea no material e propriedades geométricas do osso (MINAIRE, 1989; DONALDSON et al., 1970; YEH, 1993). Estima-se que aproximadamente 30% do total de 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).

Efeitos negativos no equilíbrio do cálcio ocorrem durante a remoção aguda de forças mecânicas em humanos com repouso no leito (WIEL et al., 1991), desuso por imobilização (WESTLIN 1974) e vôos espaciais. A ausência aguda de sobrecarga muitas vezes é mais prejudicial à massa esquelética do que a depleção aguda de estrógeno. A remoção de forças mecânicas causa uma diminuição mensal de 36% na massa em ossos sem sobrecarga (DONALDSON et al., 1970; CANN et al., 1980, RUBIN, 1985; MINAIRE et al., 1974), enquanto que a depleção aguda de estrógeno induz a 4-5% de perda prematura (CRISTIANSEN et al, 1980; WASNICH, 1983).

Por causa dos rápidos efeitos da ausência de carga no esqueleto, mesmo períodos curtos de atividade física diminuída podem causar um risco por aumentar a fragilidade óssea.

Então, tratamentos médicos comuns para doenças musculoesqueléticas e outras (fraturas, lesão ligamentar, hérnia de disco, recuperação pós-cirúrgica) que envolvam imobilização temporária por meio de talas, repouso forçado ou tração apresentam uma probabilidade de criar um problema iatrogênico, um risco aumentado de fratura (MAEDA, 1993).

A porosidade em materiais estruturais exerce uma forte influência nas propriedades mecânicas (HASHIN, 1962; BROWN 1964). Dependências similares existem para os ossos, sendo que a força e rigidez variam inversamente com o aumento da porosidade. Contrariamente, estas propriedades mecânicas melhoram quando a densidade óssea aumenta (GALANTE 1970; EVANS, 1973; CARTER & HAYES, 1977; MARTIN, 1994).

No início da imobilização a ausência de forças mecânicas resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea temporariamente sem oposição. Nos humanos, a perda óssea está no seu limite máximo durante as primeiras seis semanas e é, então, seguida por uma taxa mais baixa de perda. Um estado de equilíbrio é alcançado quando a formação óssea equilibra a reabsorção, mais provavelmente após 5-6 meses (KANNUS et al., 1994).

Na literatura, o potencial de recuperação do osso imobilizado é um assunto controvertido (MAZESS, 1983; MINAIRE, 1989; MATTSSON, 1972; TUUKKANEN, 1992). MINAIRE (1989) resume que a recuperação humana parece ser possível se o tempo de remobilização for suficiente e, se o período da imobilização não tiver excedido 5-6 meses, o tempo limite entre as fases ativa e inativa da osteopenia induzida pela imobilização. O certo é que o tempo necessário para a recuperação é maior do que o necessário para produzir as mudanças osteopênicas (ANDERSSON, 1979; KANNUS, 1992a; THOMAIDIS, 1976; BAILEY, 1990).

O osso é matéria viva e, pode ser modelado e remodelado (CURREY, 1988).

Vários métodos experimentais causam a diminuição temporária da atividade física. Assim por exemplo os métodos de imobilização em ratos incluem desnervação, neurectomia reversível (TUUKKANEN, 1991), tenotomia (THOMPSON & RODAM, 1988), amputação (BOOTH, 1977), suspensão (BOOTH, 1978), vãos espaciais (MOREY & BAYLINK, 1978), talas de plástico (LINDGREN & MATTSON, 1977), suspensão pela cauda (LE BLANC, 1985; GLOBUS, 1986) e enfaixamento da pata traseira (LINDGREN & MATTSON, 1977; JEE & LI, 1990). Os métodos cirúrgicos (desnervação, compressão do nervo, tenotomia e amputação) são efetivos, mas têm potencial limitado para controle do início de qualquer período de recuperação. O vão espacial, a suspensão, a tala e o enfaixamento têm excelente potencial de escolha e uma variedade de tempo de imobilização. A imobilização da pata traseira unilateral de ratos, com enfaixamento por bandagens elásticas permite controlar o tempo de retorno à deambulação normal (MAEDA, 1993).

MAEDA (1993), após imobilizar por seis semanas a pata traseira de ratos, pelo método de enfaixamento com bandagem elástica, mantendo 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 (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 100% de flexão e o tornozelo em 6 graus de flexão plantar, de modo que os músculos da panturrilha estivessem relaxados. Após três semanas, o conteúdo mineral do osso foi estudado por meio de um "scanner" para medida de absorção de energia dupla de raios-X. Ficou comprovado que o modelo de imobilização foi efetivo na criação de osteopenia. Todas as diferenças foram altamente significativas ($p < 0,001$ em todas as medidas), variando de 6,6% (densidade da tíbia) a 12,5% (conteúdo mineral da tíbia), sendo a diferença média de 9,6%.

KANEPS (1997), em trabalho com cães, mediu o comportamento mecânico do osso cortical e esponjoso, após 16 semanas de imobilização unilateral do membro anterior. Os

úmeros foram testados utilizando o ensaio de flexão em 3 pontos até a ruptura do osso. O autor constatou que a densidade óssea mineral, a carga máxima, a carga proporcional e a rigidez do osso cortical, bem como a tensão de ruptura, a tensão proporcional e o módulo de elasticidade foram significativamente menores para os membros imobilizados, quando comparados com os membros controle ($p < 0,002$).

1.2 Efeitos da remobilização em algumas propriedades do osso após período de imobilização

O modelamento e remodelamento do osso original envolvem a reação do osso a diversos fatores como força de gravidade, posição articular, movimentos dinâmicos e influência genética (GOULD, 1993).

O propósito do modelamento é modificar a forma e ajustar a massa de um osso para que possa resistir às tensões nas atividades diárias. A resistência óssea pode ser alterada por modificações do material e das propriedades geométricas do osso (EVANS, 1969).

Os efeitos da remobilização no tecido ósseo são pouco conhecidos, embora a questão da recuperação óssea seja de extrema importância na prevenção e no tratamento de osteopenia pós-traumática (KANNUS et al., 1992b).

GOULD (1993) sugeriu que o estresse e estiramento ósseos causados por exercícios parecem ser importantes como estímulo para o crescimento aposicional do subperiósteo e modelagem do esqueleto adulto.

A atividade física é capaz de aumentar a massa óssea de ossos adultos. O componente osteogênico específico do estímulo mecânico é, porém, desconhecido. Recentemente, foi relatado que, com o emprego de um modelo de carga exógena, os gradientes de esforço longitudinal normal estão fortemente associados com os sítios específicos de formação óssea periosteal (JUDEX, 1997).

Pesquisadores que estudaram os efeitos de carga artificial imposta por estímulos externos nos ossos em animais relataram que o esforço dinâmico é mais efetivo que o esforço estático (KANNUS, 1994; PERREM, 1969).

O exercício pode ter um efeito profundo na massa óssea, mas pouco é conhecido de seu efeito nas propriedades materiais dos ossos (REILLY, 1997).

Estudo com seres humanos e animais mostraram que o exercício físico pode aumentar o conteúdo mineral e a densidade dos ossos saudáveis, mas há, ainda, incerteza sobre a frequência e a intensidade, duração e o tipo de atividade que promove melhores estímulos anabólicos para os ossos (KANNUS, 1994).

O esforço mecânico é importante regulador do metabolismo ósseo. A imobilização induz rápida perda óssea nos ossos que sustentam peso, inicialmente pelo aumento da reabsorção óssea, que pode ocorrer após a diminuição da formação óssea (WEINREB, 1989). O exercício prolongado, ao contrário, aumenta a formação óssea e diminui a reabsorção, (YEH, 1993) direcionando-se para a hipertrofia óssea e aumento da força mecânica (RAAB et al., 1990).

A recuperação das propriedades mecânicas e morfológicas, após um período de imobilização varia com o tipo e duração da imobilização, idade, osso e espécie de animal, tipo e intensidade de exercício, durante o período de reabilitação (KANEPS, 1997).

MAEDA (1993) observou em seu trabalho, que após seis semanas de imobilização do membro traseiro de ratos, e seis semanas de remobilização, existe recuperação de 60% de perda do osso esponjoso.

1.3 Ensaio mecânico

A determinação das propriedades mecânicas de um material é realizada por meio de ensaios 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, torção, fadiga, compressão e outros. Dentre os ensaios não destrutivos podem ser destacados ensaios utilizando os raios X, ultra-som, além de outros que podem determinar algumas propriedades mecânicas por métodos diferentes (SOUZA, 1974).

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

Do ponto de vista mecânico o osso pode ser estudado como material (tecido ósseo) ou como estrutura intacta, sendo que ambos têm finalidades distintas (EVANS, 1982).

Quando há interesse no conhecimento das propriedades do tecido, amostras são retiradas do osso e ensaiadas. Assim, é possível caracterizar o tecido ósseo por meio da curva tensão-deformação. Dependendo do ensaio, pode-se determinar outras propriedades como: 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 a esforços físicos (SEDLIN, 1996).

O estudo do osso como uma estrutura intacta é interessante uma vez que os resultados refletem melhor a capacidade do sistema músculo-esquelético *in vivo*, sua função como alavanca e a capacidade para resistência aos esforços, em várias condições (HAYES & CARTES, 1971).

Sabendo-se que uma das funções principais do sistema esquelético é de sustentação (WEIR, BELL, CHAMBERS, 1949) vários estudos têm se preocupado em caracterizar o osso do ponto de vista mecânico, principalmente em situações patológicas. Uma vez que o esqueleto funciona como um sistema que suporta cargas e é submetido a um complexo de forças causadoras de deformações (MCLISTER & MOYLE, 1983), a Biomecânica apresenta-se como um valioso instrumento de medida no estudo e compreensão desses

eventos e suas conseqüências atuando, portanto, como elo fundamental entre ciências exatas e as biológicas, possibilitando uma oportunidade para estudos multidisciplinares e interação entre profissionais de diferentes formações (PESSAN, 1996).

O conhecimento das características de resistência de alguns materiais é importante na Medicina Ortopédica e Esportiva. Materiais biológicos tais como osso, músculo, tendões e cartilagem, muitas vezes, necessitam de otimização de sua resistência para evitar a ruptura (GOULD, 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 a 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, posteriormente, construir-se o gráfico carga \times deflexão (SOUZA, 1974). A partir deste gráfico, pode-se obter as seguintes propriedades mecânicas: rigidez, limite de proporcionalidade, limite máximo e resiliência.

WEIR, BELL, CHAMBERS (1949) realizaram ensaios de flexão em fêmures de ratos submetidos a diferentes tipos de dieta, comparando o osso raquítico com o normal, verificando que o raquitismo provocado experimentalmente enfraquecia o osso à metade de sua resistência.

VOSE, STOVER, MACK (1961) usaram amostras de tecido femoral conservado, em testes de flexão. Observaram que os fêmures com osteoporose foram mais fracos que os fêmures normais. Verificaram, também, que o número de microfraturas aumentou com a idade.

CARTER & HAYES (1977) verificaram que o osso cortical do adulto e o osso esponjoso podem ser considerados um material que apresenta várias densidades. O osso cortical é muito mais forte em compressão do que em tração. Ósteons com fibras de colágenos orientados longitudinalmente são mais fortes em tração do que ósteons em fibras

orientadas transversalmente. Ósteons com colágeno orientado transversalmente são muito mais fortes em compressão do que com fibras orientadas longitudinalmente.

ABRAM, KELLER, SPENGLER (1988) investigaram as mudanças histomorfométricas e mecânicas do osso que ocorrem sem a ação do peso corporal. Estudando os pares de membros traseiros utilizaram três grupos de seis ratos machos, sob peso simulado por períodos de 1, 2 e 3 semanas, enquanto ¼ do grupo ficava suspenso por duas semanas. Realizaram teste de flexão e torção, em fêmures intactos. O grupo experimental exibiu baixa densidade e, menores propriedades mecânicas, resultando hipotrofia estrutural.

KELLER & SPENGLER (1989) analisaram tensões na diáfise de ossos em crescimento, exercitando ratos. Utilizaram ratos machos, divididos em dois grupos de vinte animais. Um grupo exercitava em esteira com corrida de velocidade, enquanto o outro grupo era mantido sem exercícios. Os animais foram exercitados 5 dias na semana, até 30 semanas de idade. Durante o período de 6-30 semanas de idade o rato aumentou o peso do corpo, mas não apresentou mudanças significativas em grandezas de tensão.

GRUNDES & REIKERAS (1992) estudaram os efeitos mecânicos de diferentes graus de função, ensaiando fêmures intactos. Ratos *Wistar* machos foram exercitados em um círculo giratório durante 6 semanas. Após 6 semanas os animais foram sacrificados. Aplicaram teste de flexão em três pontos nos fêmures e verificaram que o momento máximo de flexão era maior nos ratos exercitados. Os resultados indicaram que os exercícios afetaram as características mecânicas do osso.

SALEM, ZERNICKE, VAILAS (1993) verificaram que o excesso de exercício pode afetar a integridade mecânica do osso imaturo. Utilizaram ratas com 8 dias de vida. Os animais com exercícios de controle básico foram sacrificados com 8 semanas de idade, enquanto os outros 2 grupos foram sacrificados com 18 semanas de idade. Entre 8 e 18 semanas um grupo permaneceu sedentário, enquanto outro grupo foi treinado progressivamente sobre uma esteira motorizada. O colo femoral do rato foi testado em flexão

até a ruptura. Verificaram que exercícios fortes diminuíram significativamente as propriedades mecânicas e exercícios moderados não afetaram as propriedades mecânicas.

Do exposto, fica claro que o assunto, imobilização, e treinamento são tópicos importantes para o profissional da reabilitação e muitas informações podem ser obtidas a partir de modelos experimentais, no sentido de responder as indagações ainda presentes. Isto nos motivou a elaborar esta pesquisa.

1.4 Objetivo

-Objetivo geral

Avaliar a influência da imobilização e remobilização nas propriedades mecânicas do osso.

-Objetivo específico

Realizar ensaios de flexão em ossos inteiros de animais imobilizados e exercitados após períodos variáveis do término da imobilização

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizadas 50 ratas da raça *Rattus Norvegicus albinus*, variedade *Wistar*, adultas jovens, com peso corporal médio de 209 g, fornecidas pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (dois em cada) no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, com livre acesso à água e alimentação padrão (ração poletizada).

Previamente à imobilização e ao sacrifício, todos os animais foram pesados, identificados e numerados com marcas produzidas nas orelhas, sendo que o grupo submetido ao exercício aquático, foi marcado com ácido pícrico.

2.2 Grupos experimentais

Com a morte de um animal dois dias após a chegada ao laboratório e, as mortes de três animais durante o período de imobilização, foram utilizados para o experimento 46 animais distribuídos aleatoriamente em 5 grupos experimentais, de acordo com o tipo de experimento realizado. O QUADRO 1 apresenta a distribuição dos animais e as características dos grupos.

QUADRO 1 – Distribuição dos animais e descrição dos grupos experimentais.

| <i>Grupo</i> | <i>Nº de animais</i> | <i>Descrição</i> |
|----------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Controle 1 | 9 | Os animais foram mantidos sem restrição na gaiola por 3 semanas após a chegada ao laboratório, sendo sacrificados no último dia. |
| Controle 2 | 9 | Os animais foram mantidos sem restrição na gaiola por 7 semanas após a chegada ao laboratório, sendo sacrificados no último dia. |
| Imobilizado | 10 | Os animais foram sacrificados logo após um período de 3 semanas de imobilização. |
| Imobilizado e Treinado | 9 | Após a imobilização por 3 semanas os animais foram treinados por 4 semanas, sendo sacrificados após este período de treinamento. |
| Imobilizado e Não treinado | 9 | Após a imobilização por três semanas, os animais foram deixados livres nas gaiolas por Quatro semanas, sendo sacrificados logo após este período. |
| Total | 46 | |

Foram utilizados dois grupos controle devido à diferença de idade entre os grupos.

2.3 Imobilização

Para a confecção da imobilização os animais foram anestesiados com inalação de éter sulfúrico. A imobilização foi aplicada no membro posterior direito, mantendo o quadril e o joelho em extensão, atingindo até a região pélvica (FIGURA 1). Foi utilizada uma malha tubular de algodão de 4 cm de largura para prevenir a formação de úlceras de pressão, seguido de aplicação de atadura gessada de 4 cm de largura. A manutenção diária preventiva foi realizada com a finalidade de assegurar a eficiência da imobilização e detecção de

complicações. O aparelho gessado foi substituído, quando necessário, e não impedia o deslocamento dos animais na gaiola.



FIGURA 1 – Rato com o membro posterior direito imobilizado pelo aparelho gessado

2.4 Coleta de material

Nos procedimentos de coletas de materiais, os animais foram sacrificados com inalação excessiva de éter sulfúrico. Os animais do grupo Controle 1 e Controle 2 foram pesados e sacrificados após três e sete semanas respectivamente. Nos outros grupos o gesso foi retirado com três semanas de imobilização e os animais pesados. Após a retirada do gesso, os animais do grupo Imobilizado foram sacrificados e, os animais dos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado foram sacrificados após quatro semanas de treinamento e liberação, respectivamente.

A ressecção das tíbias foi feita através de uma incisão retilínea longitudinal na face lateral da perna. Após dissecar e afastar a musculatura, foi retirada a tíbia com preservação da fíbula. Logo após, os ossos foram limpos, retirando-se as partes moles aderentes (FIGURA 2). Em seguida, os ossos foram pesados individualmente em uma balança digital de precisão de 0,01g, envolvidos em gaze embebida em soro fisiológico, identificados e armazenados em recipientes para serem conservados a -20° C.



FIGURA 2 – Tíbia e fíbula dissecadas.

2.5 Treinamento

Um reservatório circular de 500 litros, fabricado em plástico, com 60 cm de profundidade e com registro para esvaziamento, foi colocado em uma sala, de modo a manter as condições de higiene, temperatura e luz adequada. O tanque foi cheio com água fornecida pelo sistema de saneamento do campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A temperatura da água foi mantida em torno de 32° C por meio de um aquecedor de aquários, sendo agitada por uma bomba de água (FIGURA 3).

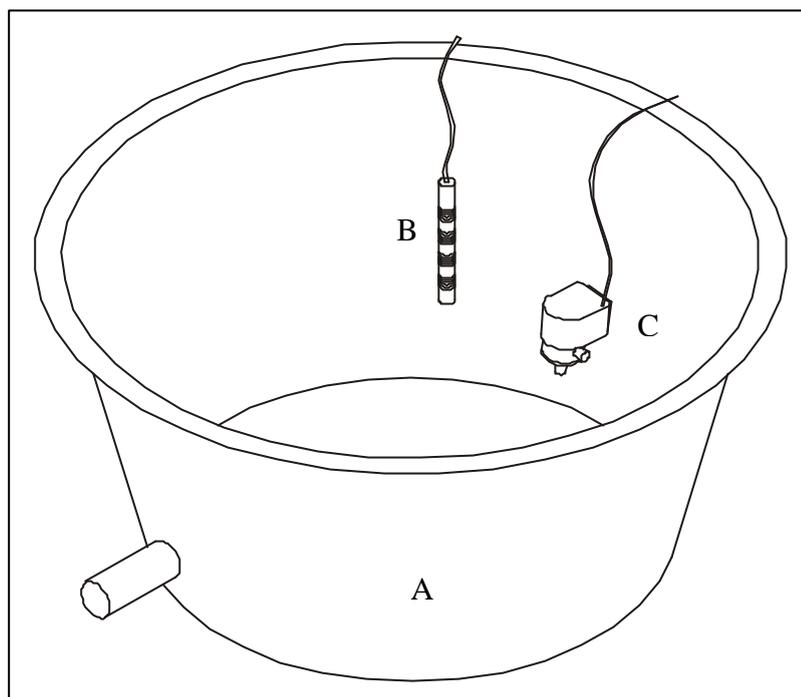


FIGURA 3 – Desenho esquemático do reservatório de água usado para realização dos exercícios. Reservatório (A), aquecedor (B) e bomba de água (C).

Para o treinamento dos animais do grupo Imobilizado Treinado foram submetidos a um trabalho de adaptação à natação. No primeiro dia de treinamento foram colocados na água por um período de 15 minutos, sem carga, com incremento diário de 5 minutos, chegando a 35 minutos de treinamento no quinto dia. Após este período, os animais passaram para o treinamento de adaptação progressiva ao esforço, utilizando peso de chumbo, previamente calibrado e preso a uma cinta elástica, adaptada à porção anterior do tórax do rato, de modo a não prejudicar a dinâmica do movimento (FIGURA 4). Inicialmente, a carga foi de 5% do peso corporal, evoluindo até 8%, em um período de três semanas, e chegando à duração de 60 minutos nos últimos cinco dias.

Após a fixação do peso, os animais foram colocados no reservatório d água para o treinamento. Durante o treinamento os animais foram observados para que não apoiassem na borda do tanque ou não flutuassem, deixando de se movimentar.



FIGURA 4 – Cinta elástica adaptada com pesos de chumbo para ser presa no tórax do animal com o objetivo de aumentar o esforço durante a natação.

Os exercícios foram realizados no período da manhã, cinco dias por semana com descanso aos sábados e domingos (FIGURA 5). Após o término da sessão de natação os animais foram secos, utilizando um aquecedor de ar. Após o período de quatro semanas em que foram submetidas aos exercícios, as ratas foram sacrificadas.



FIGURA 5 – Exercícios de natação no tanque

Os animais do grupo Imobilizado Não Treinado, após a retirada da imobilização, permaneceram pelo mesmo período de quatro semanas em suas gaiolas, com livre acesso à água e ração. Após esse período foram sacrificados.

2.6 Ensaio mecânico de flexão

Para o estudo, foram realizados ensaios de flexão em três pontos. Para isto, as tíbias foram retiradas do “*freezer*” 12 horas antes do ensaio e colocadas em refrigerador comum. Duas horas antes da realização dos ensaios, os ossos foram retirados do refrigerador para entrarem em equilíbrio térmico com o meio ambiente.

Devido às dimensões, foi confeccionado um acessório mecânico, usado como base de apoio para os ossos, com vão entre os apoios de 32mm, e para aplicar a força no centro dos apoios e da tíbia. Isto foi conseguido colocando-se um fio de *Kirschner* de 2 mm, transversalmente aos dois apoios (FIGURA 6).

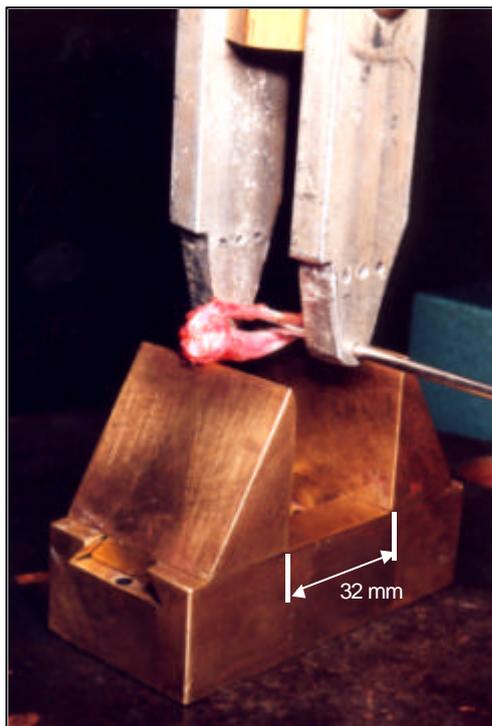


FIGURA 6 – Detalhe do posicionamento da tíbia com a fíbula no acessório para o ensaio mecânico. O vão entre os apoios foi de 32 mm.

Para a realização do ensaio de flexão do conjunto tíbia-fíbula, foi utilizada a máquina universal de ensaio do Laboratório de Bioengenharia da FMRP – USP, equipada com uma célula de carga KRATOS[®], modelo KM, com capacidade de 200 kgf, ligada a uma ponte de extensometria SODMEX[®] para medida da carga aplicada (FIGURA 7). As deformações foram fornecidas por um relógio comparador MITUTOYO[®], com precisão de 0,01mm.

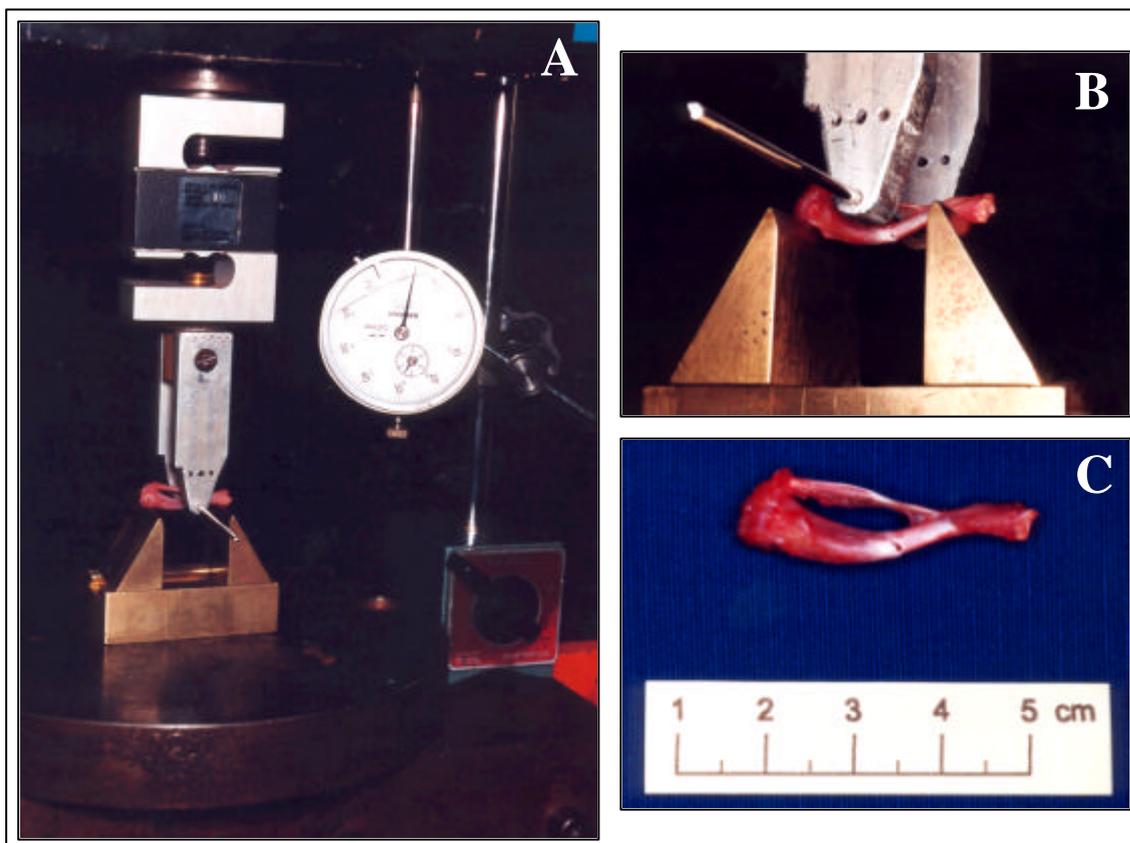


FIGURA 7 – Ensaio de flexão em três pontos. Montagem para o ensaio em tíbia e fíbula de ratos (A); posicionamento da tíbia no acessório (B); tíbia fraturada após ensaio (C).

Em todos os ensaios foi aplicada uma pré-carga de 200 gramas durante 1 minuto para acomodação do sistema. A velocidade utilizada foi de 0,25 mm/min e a carga foi aplicada na face posterior da tíbia no sentido pósterio-anterior. Sendo que a fíbula não foi submetida diretamente à carga.

Propriedades mecânicas

A partir dos valores de carga e deflexão obtidos nos ensaios foram construídas curvas carga \times deflexão como o apresentado na FIGURA 8, de onde foram calculadas as

seguintes propriedades mecânicas: limite de proporcionalidade, limite máximo, rigidez e resiliência.

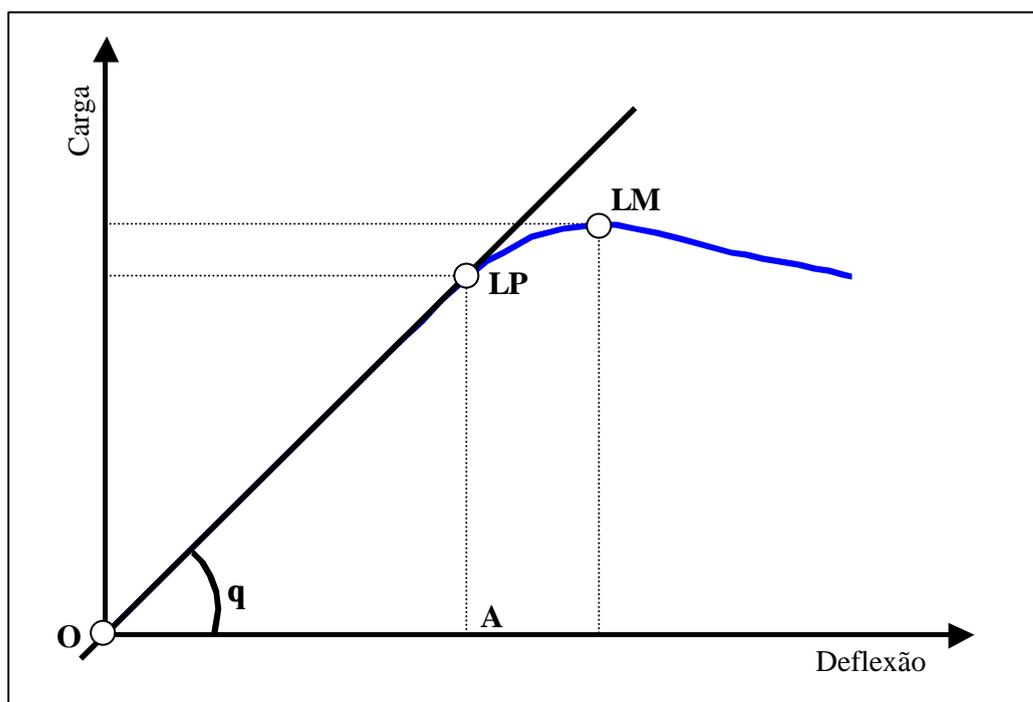


FIGURA 8 – Gráfico carga \times deflexão, a partir do qual são obtidas as principais propriedades mecânicas do ensaio de flexão em três pontos.

-Limite de proporcionalidade (LP)

O limite de proporcionalidade (ou limite elástico) é o ponto de término da relação linear entre a carga e a deflexão. Após esse limite, o material sofre pequeno escoamento dando início à fase plástica, onde não há mais relação linear entre carga e deflexão. Na FIGURA 8, o limite de proporcionalidade é representado pelo ponto LP.

-Limite máximo (LM)

O limite máximo é utilizado como critério de avaliação da resistência e é o maior valor da carga com a deflexão correspondente, observada em cada ensaio. Na FIGURA 8, o limite máximo é representado pelo ponto LM.

-Rigidez (R)

A rigidez é obtida pelo cálculo da tangente do ângulo θ , formado pela reta que representa a inclinação da curva carga x deflexão, na região elástica e o eixo horizontal (FIGURA 8) e é dada pela equação:

$$R = \operatorname{tg} \theta = \frac{ALP}{OA}$$

-Resiliência (R') – Energia absorvida na fase elástica

Resiliência é a capacidade do material absorver energia quando deformado elasticamente e readquirir a forma inicial quando liberado da carga que provocou a deflexão. A resiliência é obtida calculando-se a área abaixo da curva carga x deflexão, na região elástica, delimitada pelo triângulo O-LP-A, da FIGURA 8.

2.7 Análise estatística

Foi utilizado o teste t de Student para a análise estatística das propriedades mecânicas e dos pesos dos animais, assim como das peças, entre os grupos Controle 1 e Imobilizado. Para a análise dos dados entre os grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não treinado, foram utilizados os testes de *Kruskal-Wallis* para a comparação simultânea entre todos os grupos, e o método de *Student-Newman-Keuls* para a comparação entre pares de grupo. O nível de significância foi de 5% em todas as comparações.

Para estas análises foi utilizado o programa estatístico *SigmaStat* ^â v.2.03.

3 RESULTADOS

Os valores médios do peso corporal dos animais nos diferentes grupos, e após os períodos de procedimento, estão apresentados na TABELA 1 e FIGURA 9.

TABELA 1 – Média do peso corporal inicial e final dos animais de cada grupo.

| <i>Grupos</i> | <i>Períodos</i> | <i>Peso corporal (g)</i> |
|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| <i>Controle 1</i> | Inicial | 196,66±11,99 |
| | Após 3 semanas | 231,67±10,61 |
| <i>Controle 2</i> | Inicial | 194,44±7,68 |
| | Após 7 semanas | 283,89±18,33 |
| <i>Imobilizado</i> | Inicial | 203,50±14,54 |
| | Após 3 semanas de imobilização | 187,50±18,75 |
| <i>Imobilizado Treinado</i> | Inicial | 193,89±17,99 |
| | Após 3 semanas de imobilização | 177,78±20,02 |
| | Após 4 semanas de treinamento | 265,00±25,00 |
| <i>Imobilizado Não treinado</i> | Inicial | 209,44±21,28 |
| | Após 3 semanas de imobilização | 202,78±35,01 |
| | Após 4 semanas após liberação | 277,78±37,51 |

Os valores médios do peso das peças obtidos para os ensaios, podem ser vistos na TABELA 2 e FIGURA 10.

TABELA 2 – Valores médios do peso das peças.

| <i>Grupos</i> | <i>Peso da peça (g)</i> | |
|-------------------------------------|-------------------------|------|
| <i>Controle 1</i> | Média | 0,72 |
| | Desv. Pad. | 0,06 |
| <i>Controle 2</i> | Média | 0,90 |
| | Desv. Pad. | 0,12 |
| <i>Imobilizado</i> | Média | 0,63 |
| | Desv. Pad. | 0,07 |
| <i>Imobilizado Treinado</i> | Média | 0,88 |
| | Desv. Pad. | 0,10 |
| <i>Imobilizado Não Treinado</i> | Média | 0,86 |
| | Desv. Pad. | 0,07 |

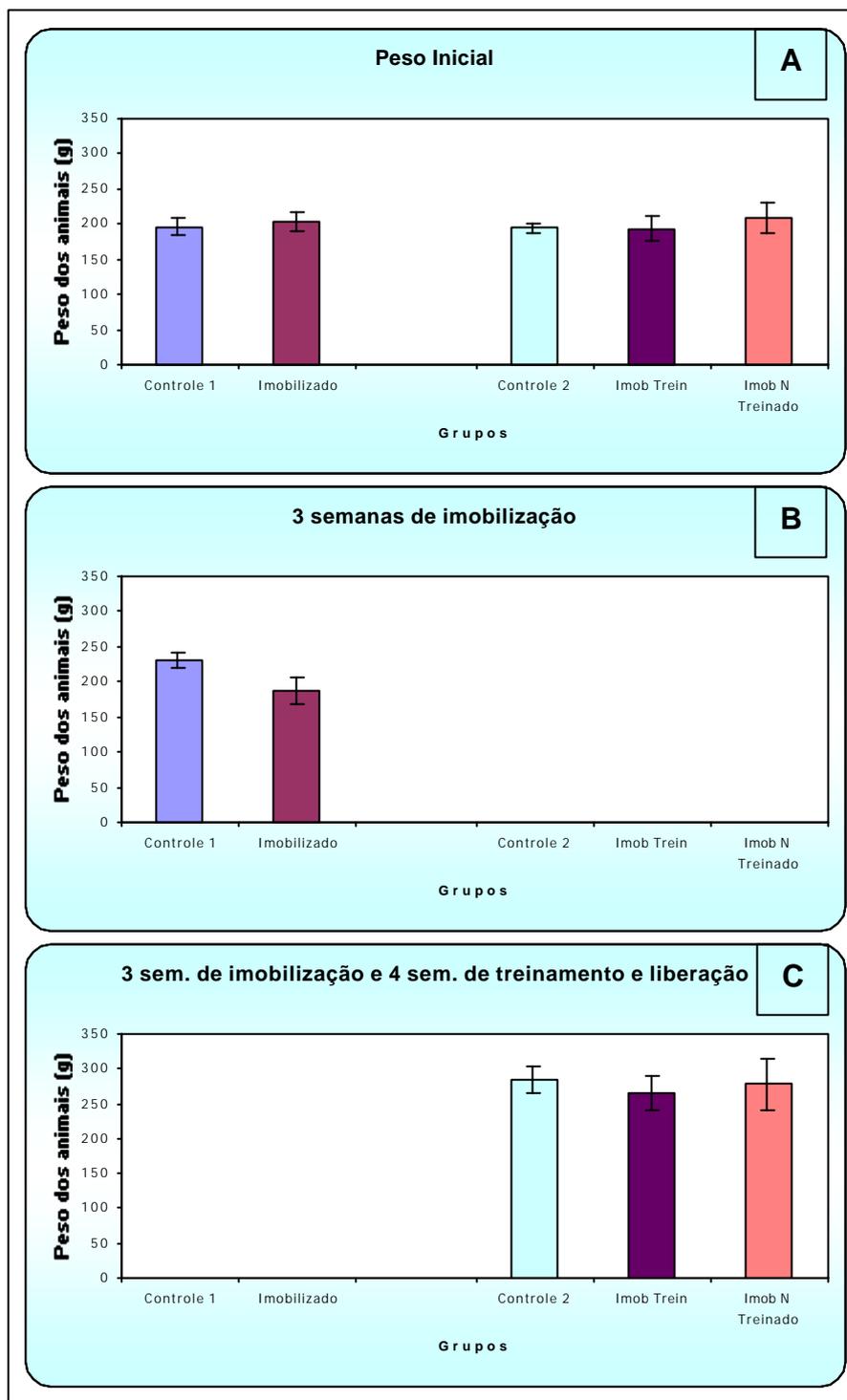


FIGURA 9 – Peso dos animais. Média do peso inicial dos animais de todos os grupos (A); Média do peso dos animais após 3 semanas de imobilização dos grupos Controle 1 e Imobilizado (B); Média do peso dos animais após 4 semanas de treinamento e liberação dos grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado (C).

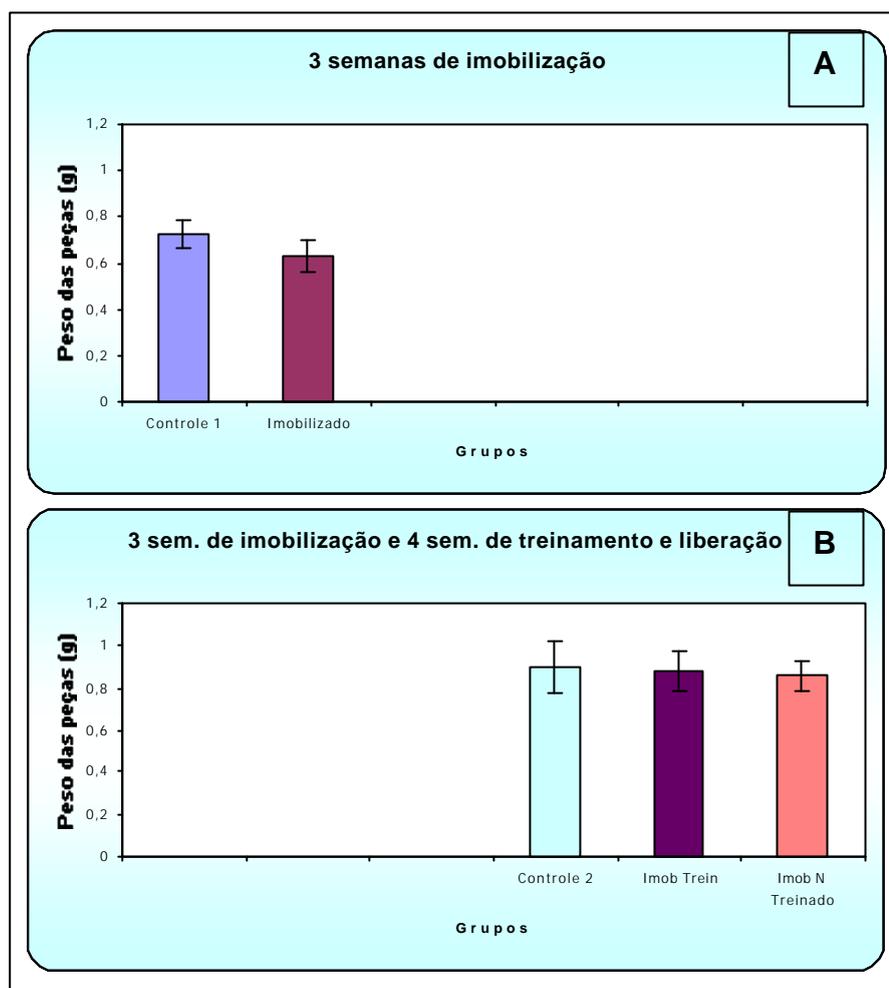


FIGURA 10 – Média do peso das peças (tíbia e fíbula) dos animais após 3 semanas de imobilização dos grupos Controle 1 e Imobilizado (A) e, das peças dos animais após 4 semanas de treinamento e liberação dos grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado (B).

Analisando os valores do peso dos animais observou-se que não houve diferença estatística entre os grupos no início do experimento ($p=0,164$) (FIGURA 9A)

O grupo com três semanas de imobilização apresentou uma diminuição significativa com relação ao grupo Controle 1 ($p\leq 0,001$), (FIGURA 9B). E os grupos com 4 semanas de remobilização (Treinado e Não Treinado), não apresentaram diferença estatística com relação ao grupo Controle 2 ($p=0,362$) (FIGURA 9C).

O peso das peças (tíbia-fíbula) do grupo Imobilizado também diminuiu significativamente com relação ao grupo Controle 1 ($p=0,007$) (Figura 10A). Na comparação simultânea dos valores dos pesos das peças, a análise estatística não apresentou diferença significativa ($p=0,683$). Comparando os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado ($p=0,719$), Controle 2 \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,661$) e Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,614$), foi observado que não houve diferenças estatísticas nestas comparações (Figura 10B).

3.1 Curvas carga \times deflexão

As curvas carga \times deflexão dos grupos Controle 1, Controle 2, Imobilizado, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado, estão apresentados nas FIGURAS 11 a 15, respectivamente. A TABELA 3 apresenta os valores das médias das propriedades mecânicas das peças dos animais dos grupos experimentais.

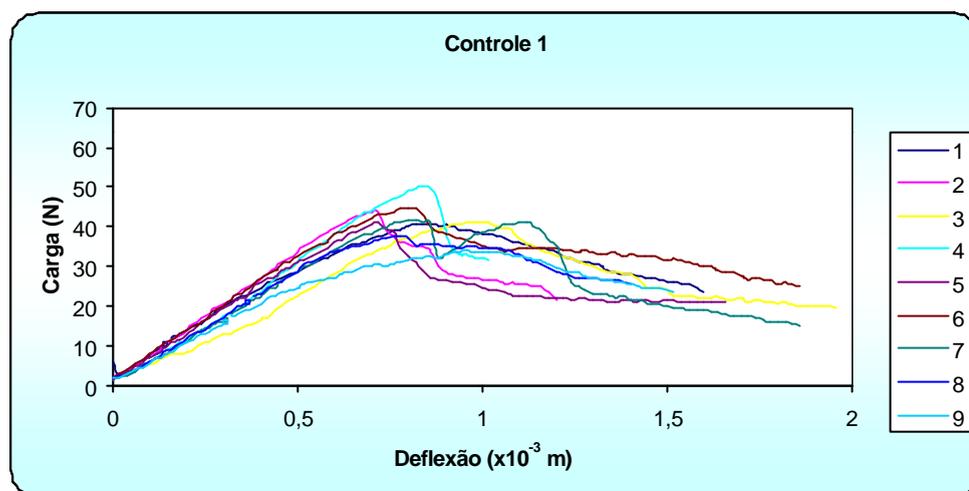


FIGURA 11 - Curvas carga \times deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Controle 1.

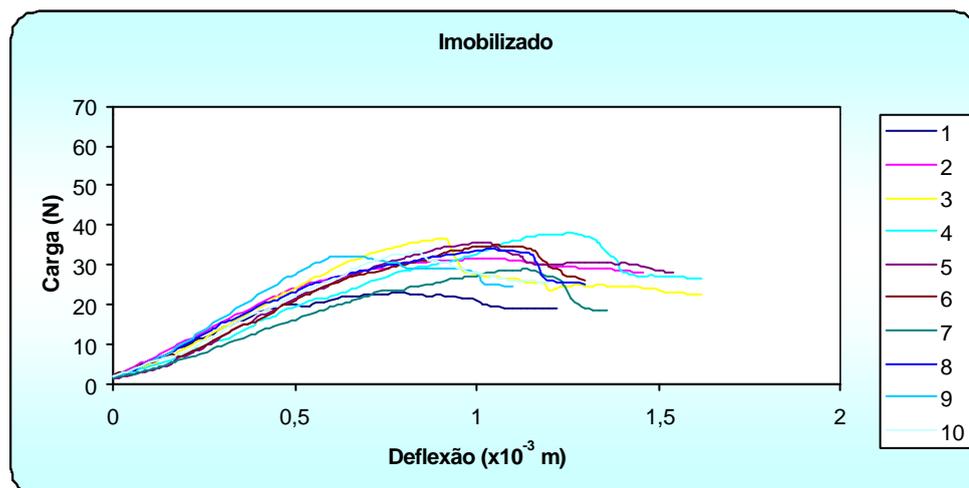


FIGURA 12 - Curvas carga \times deflexão dos 10 ossos analisados do grupo Imobilizado e sacrificados imediatamente após a retirada da imobilização.

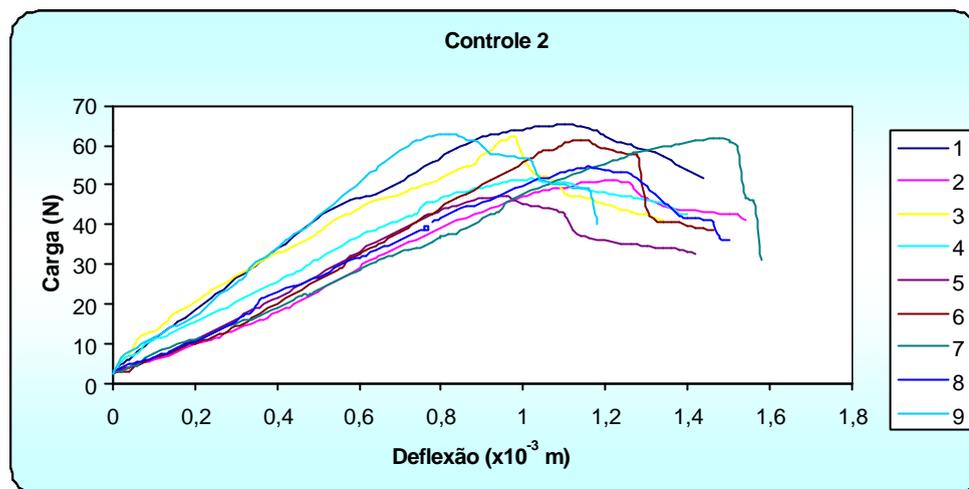


FIGURA 13 - Curvas carga \times deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Controle 2.

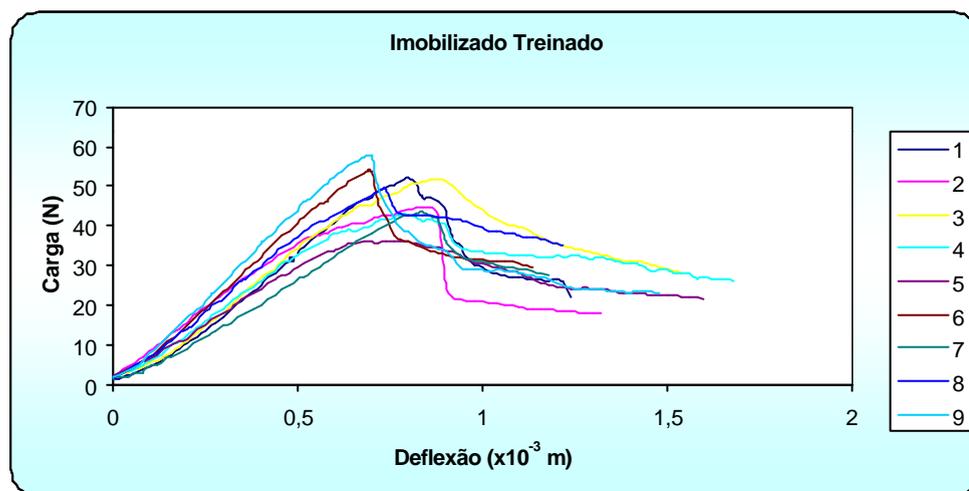


FIGURA 14 - Curvas carga \times deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Imobilizado e treinado após a retirada da imobilização.

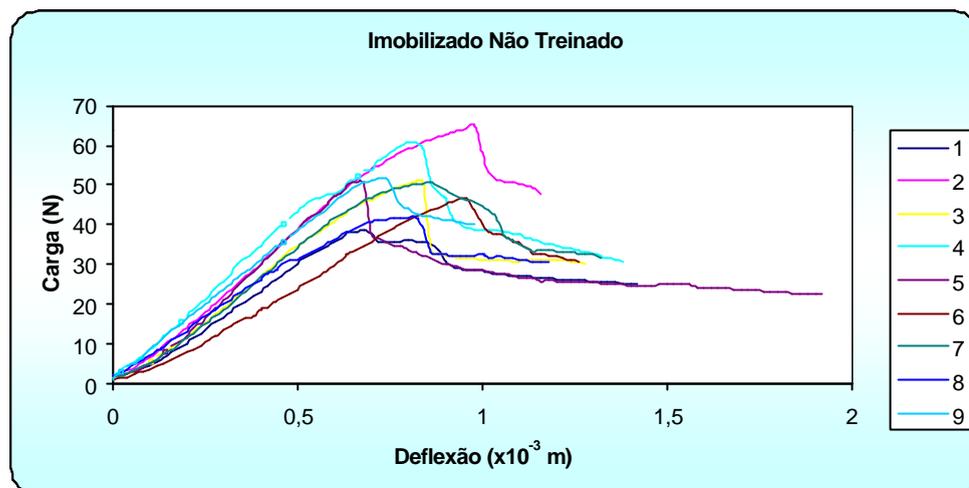


FIGURA 15 - Curvas carga \times deflexão dos 9 ossos analisados do grupo Imobilizado e não treinado após a retirada da imobilização.

TABELA 3 – Valores das médias e desvios padrão das propriedades mecânicas das peças dos animais dos grupos experimentais.

| Grupos | | <i>Limite Máximo</i> | | <i>Limite Elástico</i> | | <i>Rigidez (N/m)</i> | <i>Resiliência (J)</i> |
|---------------------|--------------|----------------------|---------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------|----------------------|------------------------|
| | | <i>Carga (N)</i> | <i>Deformação ($\times 10^{-3}$ m)</i> | <i>Carga (N)</i> | <i>Deformação ($\times 10^{-3}$ m)</i> | | |
| <i>Controle 1</i> | <i>Média</i> | 41,82 | 0,831 | 34,115 | 0,580 | 58486 | 0,0098 |
| | <i>D.P.</i> | 4,69 | 0,102 | 6,361 | 0,110 | 6313 | 0,0033 |
| <i>Controle 2</i> | <i>Média</i> | 57,61 | 1,098 | 42,982 | 0,713 | 63129 | 0,0140 |
| | <i>D.P.</i> | 6,37 | 0,188 | 5,596 | 0,157 | 10979 | 0,0040 |
| <i>Imobilizado</i> | <i>Média</i> | 32,95 | 0,963 | 25,405 | 0,585 | 43611 | 0,0073 |
| | <i>D.P.</i> | 4,40 | 0,182 | 4,023 | 0,138 | 7174 | 0,0027 |
| <i>Imob trein</i> | <i>Média</i> | 49,35 | 0,788 | 40,724 | 0,525 | 72250 | 0,0115 |
| | <i>D.P.</i> | 5,41 | 0,061 | 7,387 | 0,200 | 11260 | 0,0034 |
| <i>Imob N Trein</i> | <i>Média</i> | 50,86 | 0,811 | 42,187 | 0,608 | 73594 | 0,0122 |
| | <i>D.P.</i> | 8,35 | 0,109 | 5,906 | 0,095 | 9860 | 0,0027 |

Carga do limite máximo

O valor médio de carga do limite máximo para os ossos do grupo Controle 1 foi $(41,82 \pm 4,69)N$, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(57,61 \pm 6,37)N$, para os ossos do grupo Imobilizado foi $(32,95 \pm 4,40)N$, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado $(49,35 \pm 5,41)N$, e para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado $(50,86 \pm 8,35)N$.

A comparação entre os grupos Controle 1 \times Imobilizado mostrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,001$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado mostrou que houve diferença significativa ($p=0,038$). Na comparação entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado ($p=0,043$) e Controle 2 \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,047$), a análise estatística mostrou que foram estatisticamente diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,643$), não houve diferença estatística (FIGURA 16).

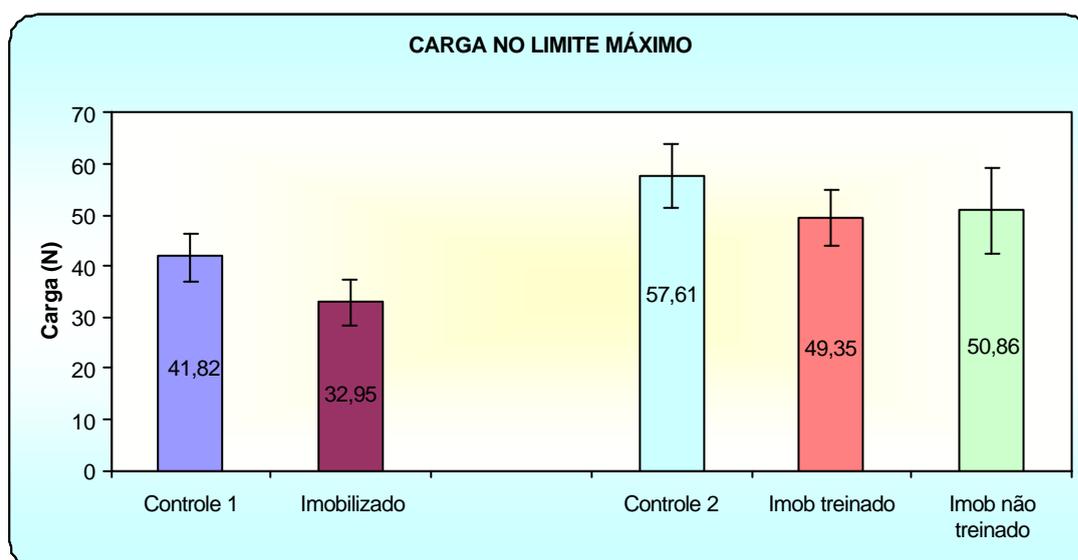


FIGURA 16 - Comparação entre os valores médios da carga do limite máximo nos diferentes grupos.

Deflexão do limite máximo

O valor médio para a deflexão do limite máximo para os ossos do grupo Controle 1 foi $(0,831 \pm 0,102) \times 10^{-3} \text{ m}$, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(1,098 \pm 0,188) \times 10^{-3} \text{ m}$, para o grupo Imobilizado foi $(0,963 \pm 0,182) \times 10^{-3} \text{ m}$, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado foi $(0,788 \pm 0,061) \times 10^{-3} \text{ m}$ e para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado foi $(0,811 \pm 0,109) \times 10^{-3} \text{ m}$.

A comparação entre os grupos Controle 1 \times Imobilizado mostrou que não houve diferença significativa ($p=0,071$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado, mostrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,001$). Na comparação entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado ($p \leq 0,001$) e Controle 2 \times Imobilizado Não Treinado ($p \leq 0,001$), a análise estatística mostrou que foram estatisticamente diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,719$), não houve diferença estatística (FIGURA 17).

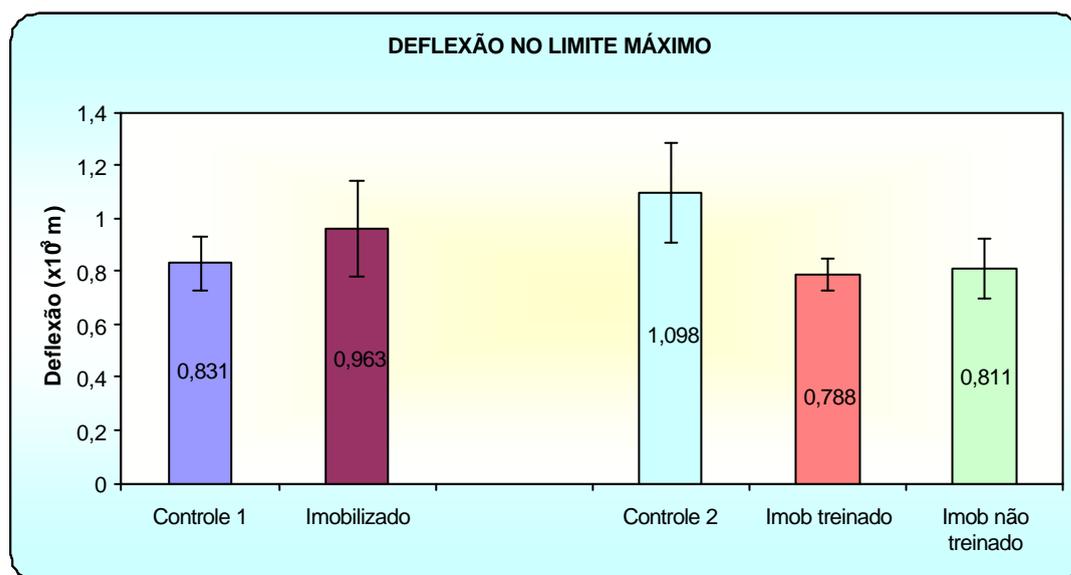


FIGURA 17 - Comparação entre os valores médios da deflexão do limite máximo nos diferentes grupos.

Carga do limite elástico

O valor médio para a carga do limite elástico para os ossos do grupo Controle 1 foi $(34,12 \pm 6,36)$ N, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(42,98 \pm 5,60)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado foi $(25,41 \pm 4,02)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado foi $(40,72 \pm 7,39)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado $(42,19 \pm 5,90)$ N.

A comparação entre os grupos Controle 1 \times Imobilizado mostrou que houve diferença significativa ($p=0,02$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado, mostrou que não houve diferença significativa ($p=0,749$). A comparação entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado ($p=0,734$) e Controle 2 \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,793$), a análise estatística mostrou que não foram diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não treinado ($p=0,629$) mostrou que não houve diferença estatística. (FIGURA 18).

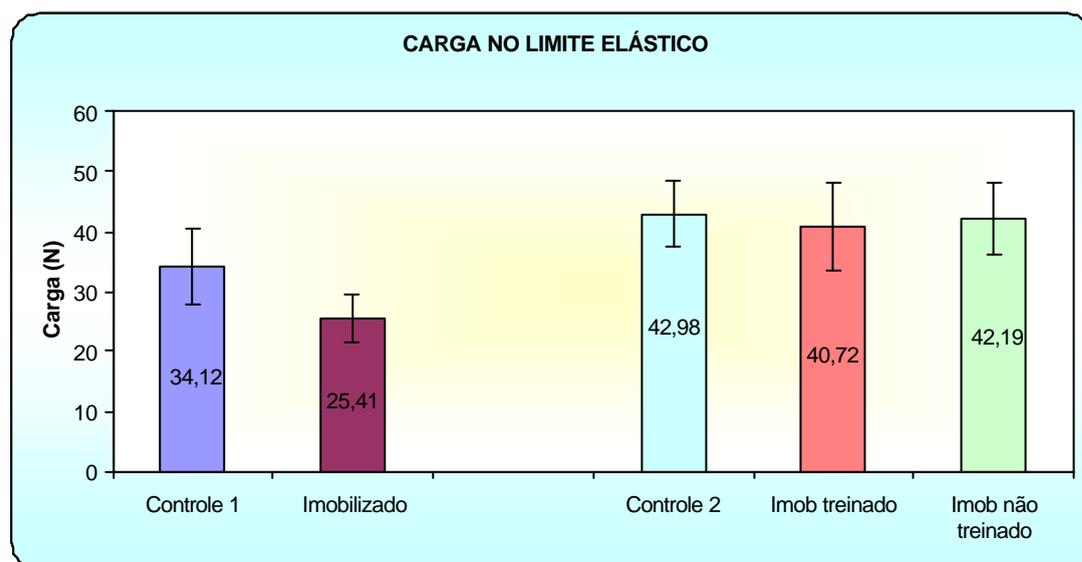


FIGURA 18 - Comparação entre os valores médios da carga do limite elástico nos diferentes grupos.

Deflexão do limite elástico

O valor médio para a deflexão do limite elástico para os ossos do grupo Controle 1 foi $(0,580 \pm 0,110)$ N, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(0,713 \pm 0,157)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado foi $(0,585 \pm 0,138)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado foi $(0,525 \pm 0,200)$ N, para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado $(0,608 \pm 0,095)$ N.

A comparação entre os grupos Controle 1 \times Imobilizado mostrou que não houve diferença significativa ($p=0,927$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2, \times Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não Treinado mostrou que não houve diferença significativa ($p=0,055$). A comparação entre os grupos Controle 2 \times Imobilizado Treinado ($p=0,045$) e Controle 2 \times Imobilizado Não Treinado ($p=0,167$), a análise estatística mostrou que não foram diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado \times Imobilizado Não treinado ($p=0,272$) mostrou que não houve diferença estatística. (FIGURA 19).

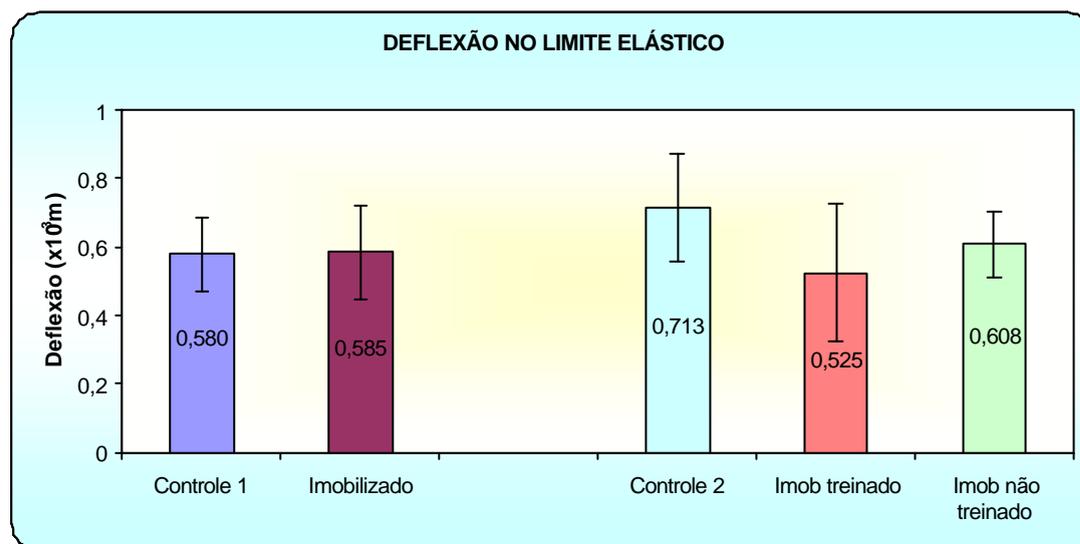


FIGURA 19 - Comparação entre os valores médios da deflexão do limite elástico nos diferentes grupos

Rigidez

O valor médio da Rigidez para os ossos do grupo Controle 1 foi $(58,49 \pm 6,31) \times 10^{-3} \text{N/m}$, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(63,13 \pm 10,98) \times 10^{-3} \text{N/m}$, para os ossos do grupo Imobilizado foi $(43,61 \pm 7,17) \times 10^{-3} \text{N/m}$, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado $(72,25 \pm 11,26) \times 10^{-3} \text{N/m}$, e para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado $(73,59 \pm 9,86) \times 10^{-3} \text{N/m}$.

A comparação entre os grupos Controle 1 x Imobilizado mostrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,001$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2 x Imobilizado Treinado x Imobilizado Não Treinado mostrou que não houve diferença significativa ($p = 0,100$). Na comparação entre os grupos Controle 2 x Imobilizado Treinado ($p = 0,084$) e Controle 2 x Imobilizado Não Treinado ($p = 0,117$), a análise estatística mostrou que não foram estatisticamente diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado x Imobilizado Não Treinado ($p = 0,793$), não houve diferença estatística (FIGURA 20).

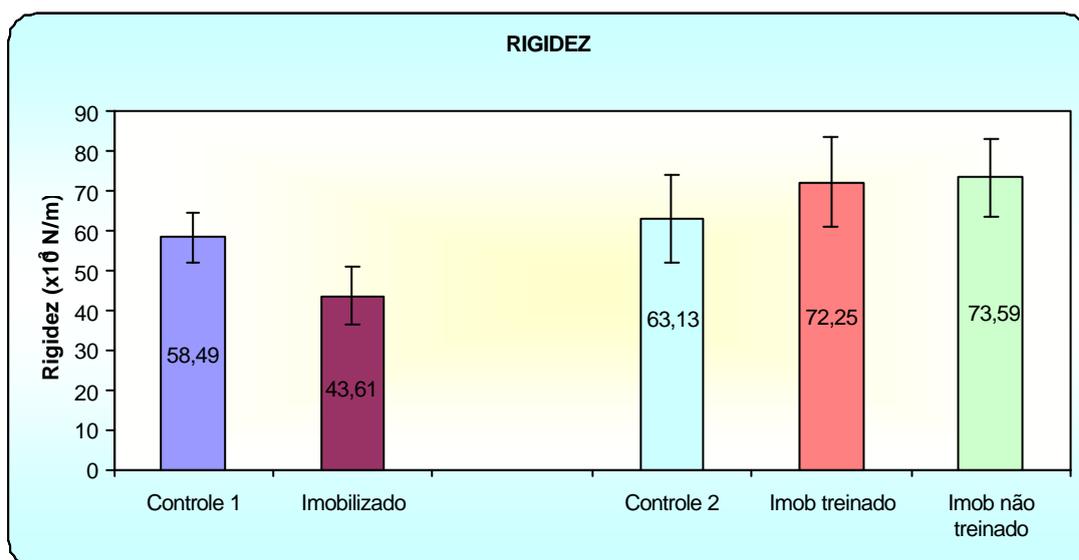


FIGURA 20 - Comparação entre os valores médios da rigidez nos diferentes grupos.

Resiliência

O valor médio da Resiliência para os ossos do grupo Controle 1 foi $(0,982 \pm 0,328) \times 10^{-2} \text{J}$, para os ossos do grupo Controle 2 foi $(1,401 \pm 0,402) \times 10^{-2} \text{J}$, para os ossos do grupo Imobilizado foi $(0,731 \pm 0,271) \times 10^{-2} \text{J}$, para os ossos do grupo Imobilizado Treinado $(1,150 \pm 0,332) \times 10^{-2} \text{J}$, e para os ossos do grupo Imobilizado Não Treinado $(1,222 \pm 0,268) \times 10^{-2} \text{J}$.

A comparação entre os grupos Controle 1 x Imobilizado mostrou que não houve diferença significativa ($p \leq 0,083$). A comparação simultânea entre os grupos Controle 2 x Imobilizado Treinado x Imobilizado Não Treinado mostrou que não houve diferença significativa ($p = 0,290$). Na comparação entre os grupos Controle 2 x Imobilizado Treinado ($p = 0,277$) e Controle 2 x Imobilizado Não Treinado ($p = 0,276$), a análise estatística mostrou que não foram estatisticamente diferentes. E na comparação entre os grupos Imobilizado Treinado x Imobilizado Não Treinado ($p = 0,652$), não houve diferença estatística (FIGURA 21).

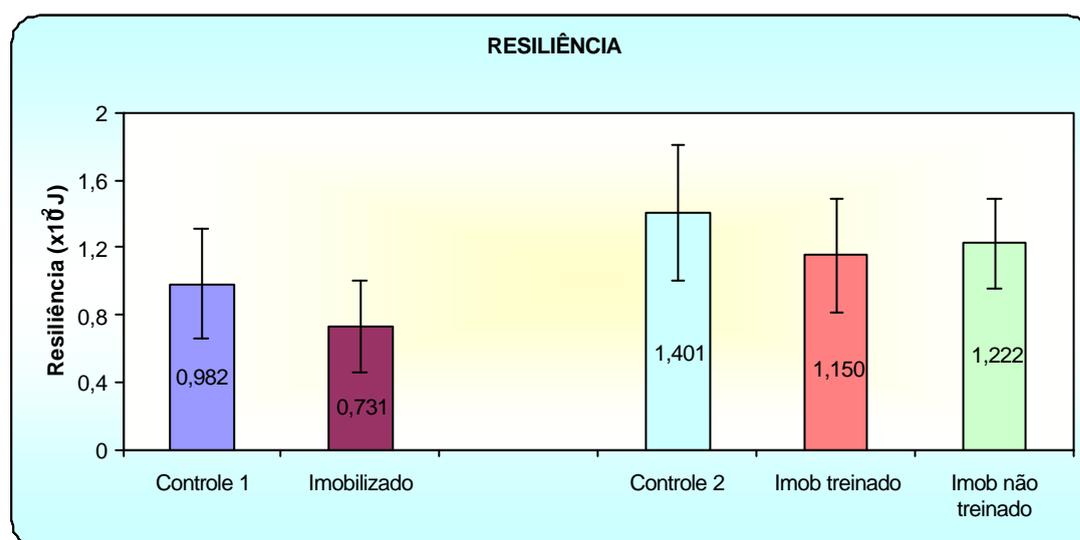


FIGURA 21 - Comparação entre os valores médios da resiliência nos diferentes grupos.

A FIGURA 22 ilustra as curvas representativas das médias para o limite de proporcionalidade e limite máximo dos ensaios de cada grupo.

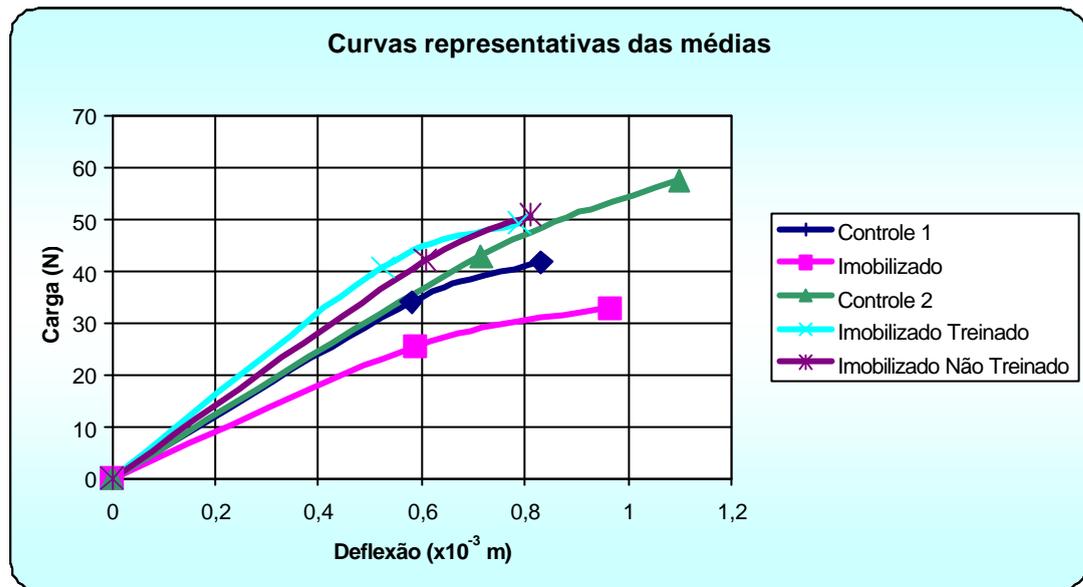


FIGURA 22 – Curvas representando as médias para cada grupo. O primeiro ponto mostra o limite de proporcionalidade e, o segundo, o limite máximo para os diferentes grupos experimentais.

4 DISCUSSÃO

Uma das questões mais importantes e mais estudadas na atualidade diz respeito aos efeitos negativos que a imobilização causa ao osso. O tratamento de várias doenças na Medicina Ortopédica envolve a imobilização que, de acordo com vários autores, tem efeito lesivo ao osso (PENNOCK et al., 1972), (APPEL, 1990).

Recentemente, o papel do exercício na manutenção da saúde e da mineralização óssea tornou-se importante tema de pesquisa. Isto ocorreu por vários motivos, entre eles o aumento da proporção de idosos na sociedade concomitante com o aumento da prevalência de osteoporose e porosidade anormal dos ossos, o que pode ameaçar a integridade do sistema esquelético. Uma outra questão é a perda da massa óssea sob condições de diminuição ou ausência de gravidade como ocorre com os astronautas (HALL, 1991).

Os resultados dos estudos da perda de cálcio durante os vôos espaciais indicam que a perda urinária de cálcio está relacionada ao tempo e duração de vôo. O padrão de perda óssea observada é extremamente similar àquele documentado entre os pacientes acamados por muito tempo, ou seja, com restrição de atividade física (HALL, 1991).

Exercícios regulares parecem aumentar a densidade óssea tanto dos membros diretamente envolvidos, quanto no sistema esquelético como um todo. Estudos em atletas corredores masculinos e femininos revelaram densidades ósseas acima da média nas extremidades superior e inferior. Estes achados sugerem que algo, além de estresse mecânico sobre o tecido ósseo, possa contribuir para a sua hipertrofia. Fatores como o aumento da circulação sanguínea no osso pode ser significativa (BAILEY, 1990).

GOULD em 1993, afirmou que de todas as ciências básicas, a Mecânica possui aplicação direta mais clara para a terapia de lesões e recuperação funcional de problemas

músculo-esqueléticos. Assim o conhecimento de princípios mecânicos é, essencial para uma compreensão da prevenção, diagnóstico e tratamento de lesões ortopédicas.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar as propriedades mecânicas de ossos, submetidos a ensaio de flexão de animais que passaram por um período de imobilização e remobilização.

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

Os materiais biológicos e os usados na Engenharia são diferentes, porém os equipamentos utilizados nesta área sugerem estudos na interface. Algumas técnicas de análise utilizadas na Engenharia podem ser adaptadas aos estudos de materiais biológicos.

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 reproduzíveis (SHIMANO e SHIMANO, 2000). Estes experimentos são denominados ensaios mecânicos.

Neste trabalho foi realizado o ensaio de flexão em três pontos, primeiramente porque este tipo de ensaio foi suficiente para as análises propostas e também por ser um ensaio simples e de fácil realização, primeiramente pela forma alongada de tíbia e fíbula.

Os animais selecionados foram adultos jovens, pelo fato de apresentarem um tamanho razoável das tíbias e fíbulas, facilitando a manipulação e fixação das amostras, para melhor visualização dos eventos ocorridos durante os ensaios (CAZON, 99).

O rato (*Rattus Norvegicus albinus*) foi escolhido pela facilidade de manutenção em laboratório, baixo custo, crescimento bastante regular e apresentar linhagem relativamente pura. Além disso, FONTOURA FILHO (1995) mostrou, em tíbias de ratos, que os membros posteriores apresentam pouca variação morfológica em relação ao tamanho do rato adulto.

A utilização dos ossos inteiros em nosso estudo justifica-se pelo interesse nas propriedades mecânicas do osso não como material, mas como estrutura inteira que conforme os relatos de HAYES & CARTER (1971) refletem melhor a solitação mecânica fisiológica.

A escolha da tibia neste estudo foi devido às dimensões adequadas para o ensaio, ao fato de sua importância na sustentação e movimentação do corpo humano e também pela tendência da tibia à flexão (caracterizada por morfologia arqueada). A fíbula foi mantida, embora em seus estudos experimentais CAZON (1999) concluiu que ela parece estar mais relacionada com as inserções musculares do que com o fortalecimento do conjunto tíbio-fibular.

Usamos como controles grupos separados e não o membro contralateral, pois embora outros autores o tenham usado, HESLINGA et al. (1992) mostraram que tanto o músculo, como o osso contralateral, não são totalmente adequados para avaliar os efeitos da imobilização, pois também sofrem alterações nas propriedades mecânicas quando o membro oposto é imobilizado.

Inicialmente realizamos testes piloto com o objetivo de padronizar os ensaios, sendo esta fase de extrema importância na escolha dos acessórios para a fixação do osso na máquina universal de ensaios, e padronizar a velocidade de aplicação da carga e da pré-carga.

A imobilização por meio de aparelho gessado é a mais utilizada dos modelos experimentais, em função do baixo custo e boa eficiência. Optamos pelo modelo proposto por BOOTH & KELSO (1973, 1979) adaptado para somente um membro posterior do rato, mantendo imobilizados quadril e joelho. De acordo com esses autores, o modelo é de grande aceitação devido à ausência de complicações como ulcerações de pele, edema em pata ou formação de úlceras gástricas, e por produzir osteopenia, dispensando técnicas invasivas.

Para o treinamento foi escolhida a natação como modalidade de exercício devido à comprovada solitação física dos animais. Além disto, nos permitiu que um grande número

de animais fosse treinado simultaneamente sob as mesmas condições experimentais, dispensando artifícios como o choque elétrico para induzir atividade, como acontece na modalidade experimental de exercícios na esteira rolante, onde o estímulo elétrico é acoplado para assegurar o treinamento físico dos animais que ainda devem ser treinados individualmente (VIEIRA et al., 1988).

A princípio, tentamos desenvolver o sistema de natação proposto por VIEIRA et al. (1988), onde ratos nadavam em tanques individuais construídos com tubos de PVC. Observamos que os animais mantinham-se na superfície da água sem se movimentar, ou movimentando pouco os membros. Como o propósito do trabalho era provocar um grande treinamento, retiramos os tubos do tanque e mantivemos as condições de temperatura e agitação da água. Os animais movimentaram-se de maneira satisfatória sem intercorrências como afogamento, mesmo após 60 minutos de treinamento.

As médias do peso corporal inicial de todos os grupos de animais foram muito próximas, portanto, sem diferença estatística entre eles.

Quando analisamos as médias do peso corporal dos grupos Controle 1 e Imobilizado, observamos uma perda de peso para os animais imobilizados, o que se explica pelo fato dos animais sofrerem uma hipotrofia muscular e, provavelmente, também óssea.

Ao analisarmos as médias do peso corporal dos grupos Controle 2, Imobilizado Não Treinado e Imobilizado Treinado, observamos que não houve diferença estatística entre os grupos. Resultado explicado pelo fato dos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado terem se recuperado após o período de imobilização e treinamento assim como a liberação nas gaiolas.

As médias do peso das peças (tíbia e fíbula) obtidas para o ensaio foram analisadas e apresentaram diferença significativa ($p=0,007$) entre os grupos Imobilizados e Controle 1, o que se explica pela provável hipotrofia óssea sofrida com a imobilização.

A célula de carga e o fio de *Kirschner* utilizados na montagem para a realização dos ensaios mecânicos sofrem pequenas deformações durante a aplicação da carga, e são consideradas desprezíveis quando comparadas com a deformação sofrida pelo osso.

Com relação aos ensaios mecânicos, a carga do limite máximo foi menor nos ossos imobilizados quando comparados com os ossos do grupo Controle 1 ($p \leq 0,01$). Este resultado sugere que o modelo de imobilização foi efetivo para provocar enfraquecimento ósseo.

Quando analisamos a carga do limite máximo para os ossos do grupo Controle 2 em relação aos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado, observamos que houve diferença estatística significativa ($p=0,038$), em favor do grupo Controle 2. Este resultado sugere que o treinamento exerceu um efeito positivo sobre o osso, favorecendo o processo de recuperação, porém ela não ocorreu em sua totalidade, o que, provavelmente ocorreu em função do tipo ou o tempo de treinamento não terem sido suficientes para recuperação total desta propriedade mecânica do osso.

A deflexão do limite máximo foi maior nos ossos imobilizados em relação ao grupo Controle 1. A deflexão do limite máximo foi estatisticamente maior para o grupo Controle 2 em relação aos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado. Levando-se em consideração que a carga do limite máximo também aumentou para o grupo Controle 2, significa que houve necessidade de uma carga maior para se deformar.

O limite máximo é utilizado como critério de avaliação da resistência, correspondendo a fase plástica. Sendo assim, os resultados citados mostram que a resistência do osso ficou menor no grupo Imobilizado, e maior no grupo Treinado, devolvendo assim, parcialmente ao osso, suas propriedades.

A carga do limite elástico foi menor nos ossos imobilizados e maior nos ossos dos grupos Controle 1.

Ao analisarmos a carga do limite elástico para os grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado, não apresentou diferença significativa. Este resultado

vai ao encontro com alguns autores (KANEPS, 1997), o que mostra uma resposta relevante, ficando claro que os animais dos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado recuperaram parcialmente suas propriedades mecânicas, em relação ao grupo Controle 2.

A deflexão do limite elástico foi maior nos ossos imobilizados, mostrando que na fase elástica, os ossos do grupo Imobilizado suportaram uma carga menor, deixando, assim, o osso mais vulnerável para lesões traumáticas como fraturas.

A deflexão do limite elástico foi maior para o Grupo Controle 2, ao analisarmos a carga do limite elástico, observamos que o grupo Controle 2 também estava maior, assim, portanto, foi exigida uma carga maior para a deformação.

A rigidez diminuiu com a imobilização e aumentou nos ossos dos grupos Imobilizado Treinado e Imobilizado Não treinado, Controle 1 e Controle 2, estando de acordo com GALANTE et al. (1970), EVANS (1973), CARTER & HAYES (1977), MARTIN (1994), que encontraram que a rigidez varia inversamente com o aumento da porosidade. Contrariamente, estas propriedades mecânicas melhoram quando a densidade óssea aumenta.

A rigidez não foi diferente estatisticamente entre os grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado, sendo que este resultado mostra que houve recuperação desta propriedade mecânica com o treinamento.

A resiliência foi menor nos ossos imobilizados e maior nos ossos do grupo Controle 1, mostrando que o osso imobilizado absorve menos energia na fase elástica.

A resiliência não foi estatisticamente significante entre os grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não treinado, mostrando que houve recuperação parcial desta propriedade mecânica, sendo assim o osso normal absorve mais energia na fase elástica.

As curvas representativas das médias mostraram que o grupo Imobilizado ficou abaixo dos grupos Controle 1 e 2, Imobilizado Não Treinado e, Imobilizado Treinado, estando de acordo com a bibliografia, que segundo KANEPS (1997), a perda e degradação

das propriedades mecânicas ocorrem pós-período de imobilização, pois, a imobilização resulta na perda do osso trabecular e alteração do tecido ósseo trabecular dinâmico. O grupo Controle 1 e 2 como era esperado, ficaram acima do grupo Imobilizado e abaixo do grupo Treinado e do grupo não Treinado, mostrando, mais uma vez, que o modelo de imobilização foi eficiente, levando a uma perda óssea e alteração das propriedades mecânicas dos ossos, como citado em varias bibliografias (DONALDSON et. al., 1970; MINAIRE, 1989; YEH, 1993). O grupo Imobilizado Treinado ficou acima dos grupos Controle 2 e Imobilizado, sendo este dado de extrema relevância, pois mostra que houve recuperação das propriedades mecânicas perdidas. O grupo Imobilizado Não Treinado também ficou acima do grupo Imobilizado e Controle 2, porém não houve diferença estatística quando comparamos com o grupo treinado.

Observamos que nos estudos pesquisados (SALEM, ZERNICKE, VAILAS, 1993) a dosagem no treinamento é um fator muito relevante. O excesso de treinamento pode afetar a integridade mecânica do osso imaturo. Por outro lado, o treinamento de baixa intensidade pode não mostrar um bom efeito ou um efeito desejável nas propriedades mecânicas do osso. Então, as variáveis tempo e intensidade de treinamento, parecem que como em outros estudos, não foram as ideais para se obter o melhor resultado em relação aos grupos Imobilizado Não Treinado e Imobilizado Treinado. Estas variáveis mostram que ainda devem ser um campo muito importante para pesquisa, já que existem várias formas de se explorar.

Outro fator relevante é o tipo de treinamento, pois a falta de impacto no treinamento em água, pode justificar não ter havido diferença estatística expressiva entre os grupos.

De acordo com a revisão de MINAIRE (1989) a recuperação parece ser possível se o tempo de remobilização for suficiente e se o período de imobilização não exceder 5-6 meses, que é o tempo limite entre as fases ativa e inativa de osteopenia induzida pela imobilização.

Segundo KANNUS (1992), o tempo necessário para recuperação é maior que o necessário para produzir as mudanças osteopenicas no osso. Sob este aspecto o grupo

Imobilizado Não Treinado acabou de certa forma também treinado, pois quando liberados na gaiola passavam a se locomover, subir na gaiola e, conseqüentemente, se exercitar. Isto não aconteceria com um paciente que estivesse imobilizado, após a retirada do gesso; ou seja, no momento seguinte ainda teria dificuldade para andar, subir escadas, enfim agir de forma natural, como se nada tivesse ocorrido. Dentro da reabilitação devemos levar em consideração que um paciente ao nos procurar, na maioria das vezes ainda permanece confinado a um leito ou numa cadeira de rodas, e este treinamento é gradativo e no caso do grupo Imobilizado Não Treinado, eles se mantiveram livres para andar e subir, pois sofreram uma imobilização e não uma cirurgia ou um trauma como uma fratura, não tendo o mesmo comportamento.

5 CONCLUSÃO

- A imobilização provocou reduções significativas nos valores das propriedades mecânicas do osso estudado.
- A remobilização livre após período de imobilização devolveu ao osso estudado suas propriedades mecânicas, não sendo, entretanto, diferente do treinamento após período de imobilização.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAM. A.C; KELLER, T.S.; SPENGLER, D.M. (1988). The effects of simulated weightlessness on bone biomechanical properties in the maturing rat. *J Biomech USA*, p.21:755-67.

ANDERSON, S.M.; NILSSON, B.E. (1979). Changes in bone mineral content following ligamentous knee injuries. *Med Sci Sports Exerc.* 11-351-353.

APPELL, H.J. (1990). Muscular atrophy following immobilization. A review. *Sports Med*, 10:42-58.

BAILEY, D.A.; MCCLLOCH, R.G. (1990). Bone tissue and activity. *Can J Sports Sci* 15:229-239.

BOOTH, F.W. (1977). Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats. *J Appl Physiol*, 43:656-661.

BOOTH, F.W. (1978). Regrowth of atrophied skeletal muscle in adult rats after ending immobilization. *J Appl Physiol*, 44:225-230, Feb.

BOOTH, F.W.; KELSO, J.R. (1973). Protection of rat muscle atrophy by cast fixation. *J Appl Physiol*, 34:404-406, March.

BOOTH, F.W.; SEIDER, M.J. (1979). Recovery of skeletal muscle after 3 mo of hindlimb immobilization in rats. *J Appl Physiol*, 47:435-439.

BROWN, S. D.; BIDDULPH, R.B.; WILCOX, P.D. (1964). A strength porosity relation involving different pore geometry and orientation. *Am Ceram Soc J*, 47:320-323.

CANN, C.E.; GENANT, H.K.; ETTINGER, B.; GORDON, G.S. (1980). Spinal mineral loss in oophorectomized women. *J Am Med Assn*, 244:2056-2059.

CARTER, D.R.; HAYES, W. (1977). The compressive behaviour of bone as a two phase porous structure. *J Bone Jt Surg*, 59:954-962.

CAZON, R.A.; (1999). Ensaio mecânico de compressão axial e flexão em três pontos em complexo tibio-fibular de ratos adultos jovens. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo. F.M.R.P. p.64.

CHRISTIANSEN, C.; CHRISTIANSEN, M.S.; MACNAIR, P.; HAGEN, C.; STOCKLUND, K.E.; TRANSBOL, L. (1980). Prevention of early postmenopausal bone loss: controlled 2 year study in 315 normal females. *J Clin Invest.* 10:273-279.

CORNWALL M. (1984). Biomechanics of noncontractile tissue. A review. *Phys Ter*, 63:1869-1873.

- CURREY, J.D. (1988). The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech*, 21,5:439-441.
- DONALDSON, C.L.; HULLEY, S.B.; VOGEL, J.M.; HATTNER R.S.; BAYERS J.H.; MACMILLAN D.E. (1970). Effect of prolonged bed rest on bone mineral. *Metabolis*, 19:1071-1084.
- EVANS, F.G.; VINCENELLI, R. (1969).Relation of collagen fiber orientation to some mechanical properties of human cortical bone. *J Biomech*, 2:63-69.
- EVANS, F.G. (1973). Mechanichanics properties of bone. *J Biomech*, 8:81-86.
- EVANS, F.G. (1982). Bone and ones. *J Biomech Eng*, 104:1-5.
- FILHO, F.G. (1995). Ensaio de cisalhamento na placa de crescimento proximal da tíbia de ratas em idades diferentes. *Dissertação de mestrado*. Universidade de São Paulo – F.M.R.P. 25-30.
- GALANTE, J.; ROSTOKER, W.; RAY, R.D. (1970). Physical properties of trabecular bone. *Calc Tiss Res*, 5:236-246.
- GLOBUS, R.K.; BIKLE, D.D; MOREY, E.R. (1986). The Temporal response of bone to unloading. *Endocrinology* 118:773-742.
- GOULD III, J.A. (1993). Biomecânica básica na terapia esportiva e ortopédica. In: *Fisioterapia na ortopedia e na medicina do esporte*. São Paulo, Manole, 3-83.
- GRUNDNES, O.; REIKERAS, O.(1992), Effects of function on rat femora. *Acta Orthop Scand*, 63:70-73.
- HALL, S.J. (1991). *Biomechanica Básica*. Rio de Janeiro S.A. Editora Guanabara Koogan. P.64-65.
- HASHIM, Z. (1962). Elastic moduli of heterogeneous materials. *J Appl Mec*, 29:143.
- HAYES, W.C. & CARTER D.R. (1971). Biomechanics of bone. In. Skeletal Resarch, SIMMONS, D.J.; KUNIN, AS. (ed) *Academic Press, New York*, 1:263-300.
- HESLINGA, J.W.; ROZENDAL,R.H.; HUIJING,P.A. (1992). Unilateral immobilization affects contralateral rat gastrocnemius muscle architecture. *Acta Anat*, 143:231- 235.
- JEE, W.S.S.; LI, S.J. (1990). Adaptation of cancellous bone to overloading in the adult rat: A single photon absorptiometry and histomorphometry study. *Anat Rec*, 227:101-111.
- JONES, H.H.; PRIEST, J.D.; HAYES, W.C.; TICHENOR, C.C.; NAGEL, A. (1977), Humeral hypotrophy in response to exercise. *J Bone Joint Surg Am*, 59:204-208.
- JUDEX, S.; GROSS, S.G.; ZERNICKE, R.F. (1997). Strain gradients correlate with sites of exercise-induced bone-forming surfaces in the adult skeleton. *J Bone Min Res*, 12:1737-1745.
- JUNQUEIRA, J.C.; CARNEIRO, J. (1999). *Histologia Básica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.159-178.

KANEPS, A.J.; STOVER, S.M.; LANE, N.E. (1997). Changes in canine cortical and cancellous bone mechanical properties following immobilization and remobilization with exercise. *J Bone*, 21,5:419-423

KANNUS, P.; JOZSA, L.; RENSTRÖM, P.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M.; LEHTO, M.; OJA, P.; VUORI, I. (1992a). The effects of training, immobilization and remobilization on musculoskeletal tissue. 1. Training and immobilization. *Scand J Med Sci Sports*, 2: 100-118.

KANNUS, P.; JOZSA, L.; RENSTRÖM, P.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M.; LEHTO, M.; OJA, P.; VUORI, I. (1992b). The effects of training, immobilization and remobilization on musculoskeletal tissue. 2. Remobilization and prevention of immobilization atrophy. *Scand J Med Sci Sports*, 2:164-176.

KANNUS, P.; JOZSA, L.; JÄRVINEN, T.L.N.; KVIST, M.; VIENO, T.; JÄRVINEN, H.A.; NATRI, A.; JÄRVINEN, M. (1994). Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. *J Appl Physiol*, 84:1418-1424.

KELLER, T.S.; SPENGLER, D.M., (1989). Regulation of bone stress and strain in the immature and mature rat femur. *J Biomech USA*, 22:1115-1127.

LE BLANC, A.; MARSH, C.; EVANS, H., JOHNSON, P.; SCHNEIDER, V. JHINGRAN, S. (1985). Bone and muscle atrophy with limb suspension in the rat. *J Appl Physiol*, 58:1669-1675.

LINDEGREN, J. U.; MATTSON, S. (1977). The reversibility of disuse osteoporosis. *Calc Tiss Res*, 23:179-184.

MAEDA, H.; KIMMEL, D.B.; RAAB, D.M.; LANE, N.E. (1993). Musculoskeletal recovery following hindlimb immobilization in adult female rats. *Bone*, 14:153-159.

MARTIN, R.B.; BOARDMAN, D.L. (1994). The effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bovine cortical bone bending properties. *J Biomech*, 26:1047-1054.

MATTSON, S. (1972). The reversibility of disuse osteoporosis. Experimental studies in the adult rat. *Acta Orthop Scand Suppl*. 144:1-135.

MAZESS, R.B.; WHEDON, G.D. (1983). Immobilization and bone. *Calcif Tissue Int*, 35:265-267.

MC ALISTER, G.B.; MOYLE, D.D. (1983). Some mechanical properties of goose femoral cortical bone, *J Biomech*, 16:577-589.

MINAIRE, P. (1989). Immobilization osteoporosis. A review. *Clin Rheumatol*, 8:95-103.

MINAIRE, P.; EDOUARD C.; BERNARD, J.; COUPRON, P.; BOURRET, J. (1974). Quantitative histological data on disuse osteoporosis. *Calcif Tissue Res*, 17:57-73.

MOREY, E.R.; BAYLINK, D.J. (1978). Inhibition of bone formation during space flight. *Science* 201:1138-1141.

PENNOCK, J.M.; KALU, D.N.; CLARK M.B.; FOSTER, G.V.; DOYLE, F.H. (1972). Hypoplasia of bone induced by immobilization. *Br J Radiol*, 45:641-646.

- PERREN, S.M.; HUGGLER, A; RUSSENBURGE M. (1969). The reaction of cortical bone to compression. *Acta orthop scand* 125:19-29.
- PESSAN, V. J. O. (1996). Ensaio de flexão em três pontos nas faces anterior e posterior de fêmures de rata, em duas fases diferentes de crescimento. *Dissertação de mestrado*. Universidade de São Paulo – F.M.R.P. p.42.
- RAAB, D.; SMITH, E.; CRENSHAW, T.; THOMAS, D. (1990). Bone Mechanical properties after exercise training in young and old rats. *J Appl Physiol* , 68:130-134.
- REILLY, D. T.; BURSTEIN, A. H.(1997). The mechanical properties of cortical bone. *J Bone Joint Surg AS*, 56:1001-1022.
- RUBIN, C. T. (1985). Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. *Calcif Tissue Int*, 37:411-417
- SALEN, G.J.; ZERNICKE, R.F.; VAILAS, A.C (1993) Adaptations of immature trabecular bone to moderate exercise geometrical biochemical, and biomechanical correlates. *Bone USA*, 14:647-654.
- SEDLIN, E.D.; HIRSCH, C. (1996). Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthop Scand*, 37:29-48.
- SHIMANO, A.C.; SHIMANO, M.M. (2000). Ensaio tecnológicos de materiais biológicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA. Florianópolis, 2000. *Anais*. Santa Catarina, CEBEB. v.1, p. 15-21.
- SOUZA, S.A. (1974). *Ensaio mecânicos de materiais metálicos*. São Paulo, Edgard Blücher, p.3-58: Ensaio de tração.
- THOMPSON, D.D.; RODAN, G.A.; (1988). Indomethacin inhibition of tenotomy-induced bone resorption in rats. *J Bone*, 3:409-414.
- THOMAIDIS, V.T.; LINDHOLM T.S. (1976). The effect of remobilization on the extremity of the adult rat after short-term immobilization in a plaster cast. *Chir Scand Suppl*. 467-36-39
- TUUKKANEN, J.; WALLMARK, B.; JALOVARA, P. (1991). Change induced in growing rat bone by immobilization and remobilization. *J Bone*. 12:113-118.
- TUUKKANEN, J.; PENG, Z.; VAANANEM H.K. (1992). The effect of training on the recovery from immobilization-induced bone loss in rats. *Acta Physiol Scand*. 145-407-411.
- VIEIRA, R.; HAEBISCH, H.; KOKUBUN, E.; HELL, N.S.; CURTI, R. (1988). Swimming system for physical exercise of rats. *Arq Biol Tecnol*, v.31, n.3, p.387-394, Ago.
- VOSE, G.P.; STOVER, B.J.; MACK, P.B. (1961). Quantitative bone strength measurements in senile osteoporosis. *J Gerontol*, 16:120-4.
- WASNICH, R.; YANO, K.; VOGEL, J. (1983). Postmenopausal bone loss at multiple skeletal sites: Relationship to estrogen use. *J Chron Dis*, 34:781-790.

WEINREB M. RODAN.G.A.; THOMPSON, D.D. (1989). Osteopenia in the immobilized rat hind limb is associated with increased bone resorption and decreased bone formation. *Bone*, 10:187-194.

WEIR, J.B.L.; BELL, G.H.; CHAMBERS, J.W. (1949). The strength and elasticity of bone in rats on a rachitogenic diet. *J Bone Joint Surg*, 31:445-451.

WESTLIN, N; E. (1974). Loss of bone mineral after colles fracture. *Clin Orthop Rel Res*, 102:194-199.

WIEL, H.E.; LIPS, P.; NAUTA. J.; NETELENBOS, J.C.; HAZEMBERG, G.J. (1991). Biochemical parameters of bone turnover during ten days of bed rest and subsequent mobilization. *Bone min*, 13:123-129.

YEH, J.K.; LIU, C.C.; ALOIA, J.F. (1993). Effects of exercise and immobilization on bone formation and resorption in young rats. *Am J Physiol*. 264:182-189.

ANEXOS

I – Tabela A₁ – Valores do peso das peças de cada animal.

II – Tabelas B₁, B₂, B₃ – Valores do peso corporal de cada animal dos grupos experimentais.

III – Tabelas C₁, C₂, C₃, C₄ e C₅ – Valores das propriedades mecânicas das peças dos animais

TABELA A₁ – Valores do peso das peças de todos os animais.

| <i>Animal</i> | <i>Peso das peças (g) - tíbia e fíbula</i> | | | | |
|-----------------|--------------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|---------------------------|
| | <i>Controle 1</i> | <i>Controle 2</i> | <i>Imobilizado</i> | <i>Imob. Treinado</i> | <i>Imob. Não Treinado</i> |
| <i>1</i> | 0,64 | 1,08 | 0,70 | 0,89 | 0,93 |
| <i>2</i> | 0,77 | 1,03 | 0,66 | 0,80 | 0,89 |
| <i>3</i> | 0,75 | 0,89 | 0,59 | 0,96 | 0,87 |
| <i>4</i> | 0,73 | 0,85 | 0,52 | 1,07 | 0,81 |
| <i>5</i> | 0,73 | 0,79 | 0,60 | 0,89 | 0,94 |
| <i>6</i> | 0,72 | 0,98 | 0,63 | 0,88 | 0,81 |
| <i>7</i> | 0,62 | 0,94 | 0,72 | 0,85 | 0,72 |
| <i>8</i> | 0,75 | 0,71 | 0,70 | 0,87 | 0,86 |
| <i>9</i> | 0,81 | 0,82 | 0,53 | 0,73 | 0,9 |
| <i>10</i> | | | 0,67 | | |
| <i>Média</i> | 0,72 | 0,90 | 0,63 | 0,88 | 0,86 |
| <i>Desv Pad</i> | 0,06 | 0,12 | 0,07 | 0,10 | 0,07 |

TABELA B₁ – Valores do peso corporal inicial dos animais.

| <i>Animal</i> | <i>Peso inicial dos animais (g)</i> | | | | |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|---------------------------|
| | <i>Controle 1</i> | <i>Controle 2</i> | <i>Imobilizado</i> | <i>Imob. Treinado</i> | <i>Imob. Não Treinado</i> |
| <i>1</i> | 195 | 190 | 190 | 200 | 200 |
| <i>2</i> | 200 | 205 | 195 | 200 | 200 |
| <i>3</i> | 185 | 185 | 200 | 185 | 210 |
| <i>4</i> | 210 | 185 | 205 | 175 | 250 |
| <i>5</i> | 205 | 195 | 195 | 185 | 230 |
| <i>6</i> | 195 | 205 | 200 | 195 | 205 |
| <i>7</i> | 180 | 190 | 185 | 170 | 180 |
| <i>8</i> | 215 | 200 | 210 | 230 | 190 |
| <i>9</i> | 185 | 195 | 225 | 205 | 220 |
| <i>10</i> | | | 230 | | |
| <i>Média</i> | 196,67 | 194,44 | 203,50 | 193,89 | 209,44 |
| <i>Desv Pad</i> | 11,99 | 7,68 | 14,54 | 17,99 | 21,28 |

TABELA B₂ – Valores do peso corporal dos animais após 3 semanas de imobilização dos grupos Controle 1, Imobilizado, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado.

| <i>Animal</i> | <i>Peso dos animais após 3 semanas de imobilização (g)</i> | | | | |
|-----------------|------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|---------------------------|
| | <i>Controle 1</i> | <i>Controle 2</i> | <i>Imobilizado</i> | <i>Imob. Treinado</i> | <i>Imob. Não Treinado</i> |
| <i>1</i> | 245 | | 170 | 185 | 185 |
| <i>2</i> | 230 | | 180 | 155 | 185 |
| <i>3</i> | 235 | | 185 | 190 | 225 |
| <i>4</i> | 245 | | 185 | 145 | 250 |
| <i>5</i> | 225 | | 170 | 185 | 255 |
| <i>6</i> | 220 | | 185 | 180 | 180 |
| <i>7</i> | 240 | | 170 | 160 | 155 |
| <i>8</i> | 230 | | 190 | 205 | 175 |
| <i>9</i> | 215 | | 215 | 195 | 215 |
| <i>10</i> | | | 225 | | |
| <i>Média</i> | 231,67 | | 187,50 | 177,78 | 202,78 |
| <i>Desv Pad</i> | 10,61 | | 18,75 | 20,02 | 35,01 |

TABELA B₃ – Valores do peso corporal dos animais após 3 semanas de imobilização e 4 semanas de treinamento ou liberação dos grupos Controle 2, Imobilizado Treinado e Imobilizado Não Treinado.

| <i>Animal</i> | <i>Peso dos animais após 3 semanas de imobilização e 4 semanas de treinamento ou liberação (g)</i> | | | | |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|---------------------------|
| | <i>Controle 1</i> | <i>Controle 2</i> | <i>Imobilizado</i> | <i>Imob. Treinado</i> | <i>Imob. Não Treinado</i> |
| <i>1</i> | | 285 | | 270 | 255 |
| <i>2</i> | | 300 | | 275 | 270 |
| <i>3</i> | | 270 | | 255 | 280 |
| <i>4</i> | | 265 | | 285 | 350 |
| <i>5</i> | | 275 | | 240 | 320 |
| <i>6</i> | | 325 | | 260 | 260 |
| <i>7</i> | | 275 | | 220 | 225 |
| <i>8</i> | | 280 | | 305 | 255 |
| <i>9</i> | | 280 | | 275 | 285 |
| <i>10</i> | | | | | |
| <i>Média</i> | | 283,89 | | 265,00 | 277,78 |
| <i>Desv Pad</i> | | 18,33 | | 25,00 | 37,51 |

TABELA C₁ – Valores das propriedades mecânicas dos ossos dos animais do grupo Controle1.

| Animais | Limite máximo | | Limite elástico | | Rigidez (x10 ³ N/m) | Resiliência (J) |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | | |
| 1 | 40,70 | 0,859 | 26,608 | 0,436 | 58,608 | 0,0056 |
| 2 | 44,09 | 0,719 | 39,913 | 0,599 | 64,455 | 0,0116 |
| 3 | 41,21 | 1,015 | 36,780 | 0,775 | 49,571 | 0,0136 |
| 4 | 50,61 | 0,840 | 43,826 | 0,677 | 67,978 | 0,0141 |
| 5 | 41,22 | 0,713 | 31,043 | 0,495 | 60,103 | 0,0074 |
| 6 | 45,13 | 0,794 | 34,956 | 0,534 | 62,541 | 0,0089 |
| 7 | 42,00 | 0,820 | 37,040 | 0,648 | 57,174 | 0,0120 |
| 8 | 37,57 | 0,759 | 33,391 | 0,586 | 56,981 | 0,0098 |
| 9 | 33,91 | 0,957 | 23,478 | 0,469 | 48,967 | 0,0054 |
| Média | 41,82 | 0,831 | 34,115 | 0,580 | 58,486 | 0,0098 |
| Desv. Pad. | 4,69 | 0,102 | 6,361 | 0,110 | 6,313 | 0,0033 |

TABELA C₂ – Valores das propriedades mecânicas dos ossos dos animais do grupo Controle2.

| Animais | Limite máximo | | Limite elástico | | Rigidez (x10 ³ N/m) | Resiliência (J) |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | | |
| 1 | 65,23 | 1,100 | 43,388 | 0,520 | 77,875 | 0,0105 |
| 2 | 51,36 | 1,220 | 34,710 | 0,698 | 58,059 | 0,0104 |
| 3 | 62,07 | 0,980 | 44,834 | 0,615 | 63,013 | 0,0119 |
| 4 | 51,63 | 1,020 | 38,000 | 0,619 | 56,111 | 0,0107 |
| 5 | 47,51 | 0,960 | 37,024 | 0,663 | 58,560 | 0,0119 |
| 6 | 61,46 | 1,140 | 44,000 | 0,800 | 60,690 | 0,0160 |
| 7 | 61,85 | 1,480 | 48,880 | 1,030 | 50,011 | 0,0224 |
| 8 | 54,52 | 1,160 | 44,000 | 0,857 | 59,300 | 0,0163 |
| 9 | 62,87 | 0,820 | 52,000 | 0,615 | 84,539 | 0,0160 |
| Média | 57,61 | 1,098 | 42,982 | 0,713 | 63,129 | 0,0140 |
| Desv. Pad. | 6,37 | 0,188 | 5,596 | 0,157 | 10,979 | 0,0040 |

TABELA C₃ - Valores das propriedades mecânicas dos ossos dos animais do grupo Imobilizado.

| Animais | Limite máximo | | Limite elástico | | Rigidez (x10 ³ N/m) | Resiliência (J) |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | | |
| 1 | 22,96 | 0,781 | 18,956 | 0,423 | 40,682 | 0,0036 |
| 2 | 31,65 | 1,054 | 24,000 | 0,488 | 45,588 | 0,0054 |
| 3 | 36,97 | 0,912 | 30,956 | 0,651 | 47,011 | 0,0100 |
| 4 | 37,91 | 1,263 | 28,521 | 0,798 | 35,323 | 0,0112 |
| 5 | 35,90 | 1,015 | 23,443 | 0,539 | 47,843 | 0,0057 |
| 6 | 35,00 | 1,013 | 24,615 | 0,550 | 42,873 | 0,0065 |
| 7 | 28,90 | 1,100 | 24,082 | 0,768 | 31,147 | 0,0092 |
| 8 | 34,09 | 1,039 | 20,869 | 0,423 | 47,258 | 0,0042 |
| 9 | 32,35 | 0,622 | 27,826 | 0,501 | 56,974 | 0,0068 |
| 10 | 33,74 | 0,833 | 30,782 | 0,710 | 41,413 | 0,0104 |
| Média | 32,95 | 0,963 | 25,405 | 0,585 | 43,611 | 0,0073 |
| Desv. Pad. | 4,40 | 0,182 | 4,023 | 0,138 | 7,174 | 0,0027 |

TABELA C₄ - Valores das propriedades mecânicas dos ossos dos animais do grupo Imobilizado Treinado.

| Animais | Limite máximo | | Limite elástico | | Rigidez (x10 ³ N/m) | Resiliência (J) |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | | |
| 1 | 52,17 | 0,795 | 45,913 | 0,662 | 77,898 | 0,0135 |
| 2 | 42,26 | 0,853 | 32,086 | 0,439 | 70,038 | 0,0068 |
| 3 | 52,17 | 0,879 | 41,739 | 0,061 | 74,136 | 0,0117 |
| 4 | 43,04 | 0,788 | 33,913 | 0,527 | 65,978 | 0,0087 |
| 5 | 49,70 | 0,761 | 30,782 | 0,521 | 56,089 | 0,0076 |
| 6 | 54,00 | 0,762 | 45,391 | 0,557 | 85,643 | 0,0120 |
| 7 | 43,57 | 0,837 | 42,782 | 0,788 | 57,195 | 0,0160 |
| 8 | 49,30 | 0,729 | 40,434 | 0,547 | 74,877 | 0,0109 |
| 9 | 57,91 | 0,690 | 53,478 | 0,619 | 88,393 | 0,0162 |
| Média | 49,35 | 0,788 | 40,724 | 0,525 | 72,250 | 0,0115 |
| Desv. Pad. | 5,41 | 0,061 | 7,387 | 0,200 | 11,260 | 0,0034 |

TABELA C₅ - Valores das propriedades mecânicas dos ossos dos animais do grupo Imobilizado Não Treinado.

| Animais | Limite máximo | | Limite elástico | | Rigidez (x10 ³ N/m) | Resiliência (J) |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | Carga (N) | Deformação (x10 ⁻³ m) | | |
| 1 | 38,61 | 0,667 | 35,686 | 0,586 | 65,239 | 0,0098 |
| 2 | 65,39 | 0,971 | 49,739 | 0,638 | 80,876 | 0,0153 |
| 3 | 50,78 | 0,833 | 39,652 | 0,586 | 70,056 | 0,0112 |
| 4 | 60,52 | 0,794 | 44,521 | 0,521 | 86,616 | 0,0114 |
| 5 | 51,13 | 0,672 | 46,956 | 0,599 | 85,842 | 0,0123 |
| 6 | 46,61 | 0,953 | 41,739 | 0,820 | 57,776 | 0,0159 |
| 7 | 50,78 | 0,859 | 42,782 | 0,622 | 75,188 | 0,0122 |
| 8 | 41,74 | 0,817 | 31,304 | 0,479 | 65,405 | 0,0075 |
| 9 | 52,17 | 0,729 | 47,304 | 0,619 | 75,345 | 0,0144 |
| Média | 50,86 | 0,811 | 42,187 | 0,608 | 73,594 | 0,0122 |
| Desv. Pad. | 8,35 | 0,109 | 5,906 | 0,095 | 9,860 | 0,0027 |