Revista Brasileira de Engenharia Biomédica,

v. 18, n. 2, p. 89-97, mai/ago 2002 © SBEB - Sociedade Brasileira de Engenharia Biomédica ISSN 1517-3151

Artigo Original recebido em 10/01/2002 e aceito em 11/07/2002

Histerese de fêmures de ratas submetidos a ensaio de flexão, em diferentes faixas etárias

Hysteresis of rat femurs submitted to bending test, in diferent age groups

Marcos Massao Shimano

Engenheiro Mecânico (EFEI) Mestre em Bioengenharia (Interunidades Bioengenharia / FMRP/EESC/IQSC – USP) Rua Padre Manoel Bernardes, 1031 14030-280 – Ribeirão Preto - SP e-mail: mmshimano@yahoo.com.br

Antônio Carlos Shimano

Engenheiro Mecânico do Laboratório de Bioengenharia da FMRP-USP e-mail: ashimano@fmrp.usp.br

José Batista Volpon

Professor Associado Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da FMRP-USP. e-mail: jbvolpon@fmrp.usp.br

Resumo

A idade afeta vários elementos do sistema locomotor, incluindo suas propriedades mecânicas. Os ossos são materiais viscoelásticos e uma característica deles é a ocorrência de histerese quando submetidos a ciclos de carregamento e descarregamento. Nesta pesquisa foi estudada a tensão máxima e a energia de histerese em fêmures de ratas de diferentes idades, submetidos a ensaios de flexão em três pontos. Foram utilizados os fêmures de 90 ratas fêmeas, da raça Wistar, divididas em três grupos de 30 animais, de acordo com a idade: 25 dias (A), 65 dias (B) e 365 dias (C). Cada grupo foi subdividido em 3 lotes de 10 animais. Todos os fêmures foram submetidos a ensaio de flexão em três pontos. De cada par de ossos, o fêmur esquerdo foi submetido ao carregamento até a ruptura (ensaio destrutivo) e, o fêmur direito, submetido ao carregamento até 40% (subgrupo I), 60% (subgrupo II) e 80% (subgrupo III) do limite elástico obtido do fêmur contralateral e, então, descarregado. A tensão máxima aplicada aumentou significativamente com a idade e a perda de energia relativa foi estatisticamente igual entre os lotes de uma mesma idade, mas diminuiu significativamente com o aumento da idade. A idade influenciou a tensão máxima e o comportamento viscoelástico dos fêmures de ratas, mas são necessários estudos mais profundos para compreendermos melhor o comportamento deste material.

Palavras-chave: Histerese, Idade, Ratas, Tensão aplicada, Viscoelasticidade.

Abstract

Ageing affects many features of the locomotor system, including its mechanical properties. Bone is a viscoelastic material what means that it displays the phenomenon of hysteresis when submitted to loading-unloading cycles. In the present research was studied the behavior of the ultimate stress and the energy of hysteresis of femurs of rats in different ages, when tested in bending. Ninety femurs collected from female Wistar rats were used. There were three groups classified according to the animal age: 25 days (A), 65 days (B) and 365 days (C). The groups were divided into 3 subgroups (10 animals each). All the femurs were submitted to a three-point bending test. For each paired bones, the left femur was loaded until failure and the right femur was loaded to 40% (subgroup I), 60% (subgroup II) and 80% (subgroup III) of the yield load in relation to the opposite side femur and, then, unloaded. The comparison among the three groups showed that the ultimate stress increased with age and the relative energy loss was equal for the subgroups belonging to the same group, but different when the different groups were compared. It was concluded that ageing affects both the ultimate stress and the viscoelastic behavior of rat femurs, but further studies are necessary to deepen the knowledge in such matter. Keywords: Ageing, Hysteresis, Rat, Ultimate stress, Viscoelasticity.

Extended abstract

Introduction

The mechanical behavior of bones is considered to be much more complex than that displayed by other materials and one cause of such complexity is the bone viscoelasticity. For the viscoelastic material the mechanical properties also depend on the load rate (loading velocity). Furthermore, viscoelastic materials exibit the phenomenon of hysteresis when submitted to loading and unloading cycles. Therefore, from the load x deformation curves three kinds of energy can be obtained: loading, unloading and hysteresis energy. The relative energy loss is considered one of the most important parameters for the viscoelastic properties. Age is another important condition. Therefore, in the present research, we studied the viscoelastic behavior of rat femurs at different ages, when submitted to three point flexion tests.

Material and methods

Pregnant Wistar rats were selected and kept in individual cages until delivering occurred. From each batch of animals, 6 newborn female rats were selected and the rest of the animals were discarded. Thereafter, the rats were raised in identical conditions and killed at 25, 65 and 365 days of age, thus forming groups A, B and C, respectively. After the sacrifice they were weighted, both femurs were collected, cleaned of soft tissues and stored frozen at -20°C. From each pair of bones, the left femur was used to be tested in three point bending until failure occurred. The yield load was obtained and the right femur (same pair) was loaded to 40% (subgroup I), 60% (subgroup II) and 80% (subgroup III) of the yield load presiously obtained on the opposite side femur and, then unloaded. The hysteresis loop was obtained from plotting load x deflection. The ultimate tension was also calculated. Firstly, cross sections were obtained in region close to fracture site. Then, several cross sections were mounted in glass slides, and scanned. The cortex area was determined and the geometric properties were obtained. The ANOVA test was used to compare the results with the level of significance established in 5%.

Results

The comparation among the three groups showed that the ultimate stress increased with age and the relative energy loss was equal for the subgroup belonging to the same group, but different when different groups were compared.

Discussion and conclusion

The energy of histeresis is also known as the property of absorved elastic energy and it plays an important role for protection of bones and cartilages. In the present research, we selected the ages of 25, 65 and 365 days because they represent important steps in the rat developmental curves, corresponding to an imature, young adult and adult animal, respectively. Our results clearly showed that maturity caused a significant increase in the relative energy loss. Such data sugest that there are changes in the microstructural architecture of bones at different age groups. The relative energy loss means the percentage of energy absorved in relation to the amount of energy offered in the elastic phase. Therefore, the greater that loss, the greater amount of absorbed energy. In young animals such feature may represent a way of protection against fractures and permanent bone deformities. For senile animals that property may be affected by the loss of bone mass. Another important result is that the level of loading during the elastic phase has not influenced the relative energy loss. The results of the present research suggest that other studies are necessary to a better understaing of the events that occur in the bone upon different mechanical demands.

Introdução

O conhecimento das propriedades mecânicas de um material ou de uma estrutura é de grande importância para caracterizar seu comportamento frente aos esforços de natureza mecânica. A função estrutural dos ossos é essencial para a sobrevivência da espécie, pois serve de suporte para o corpo, protege órgãos vitais e, mediante a ação dos músculos, atuam como alavancas que efetuam a movimentação do corpo. Como conseqüência, estão constantemente sujeitos a vários tipos de tensões.

Entretanto, os ossos quando submetidos a esforços mecânicos apresentam um comportamento mecânico muito mais complexo do que outros materiais, sendo a viscoelasticidade uma das causas desta complexidade.

Em termos de viscoelasticidade, um material com comportamento elástico ideal é caracterizado pelo armazenamento de toda energia fornecida a ele durante o processo de deformação mecânica, e é totalmente devolvida ao retirar-se o esforço que a causou, como o que ocorre com uma mola. O material com comportamento viscoso se caracteriza por ter toda a energia a ele fornecida no processo de deformação mecânica dissipada na forma de calor, como, por exemplo o amortecedor. Já, quando o material apresentar um comportamento mais genérico, diz-se que é viscoelástico (Sedlin, 1965).

Uma caracterização dos materiais viscoelásticos é a dependência do comportamento mecânico com a taxa de carregamento (velocidade de aplicação de carga). Outra característica importante é a ocorrência de histerese quando submetidos a ciclos de carregamento e descarregamento. A histerese é um fenômeno que acontece em materiais viscoelásticos quando submetidos a ciclos de carregamento e descarregamento (ensaio de histerese). Deste tipo de ensaio, três energias podem ser distinguidas no gráfico carga *x* deflexão: Energia de carregamento (E_c), representada pela área inferior à curva de carregamento; Energia de descarregamento (E_D), representada pela área inferior à curva de descarregamento; Energia de histerese (E_H), representada pela diferença entre as áreas e representa a energia absorvida pelo material (Linde *et al.*, 1989) (Figura 1).

A perda de energia relativa durante o ciclo de histerese é considerada um dos parâmetros mais importantes das propriedades viscoelásticas. Seu cálculo é realizado dividindo a energia de histerese pela energia de carregamento. É adimensional, mas se multiplicado por cem, o valor da perda de energia relativa será dado em porcentagem (Linde, 1994). Segundo Burstein e Wright (1994), a quantidade e o comportamento da histerese vai depender também do nível de carregamento. Na figura 2, quando o carregamento for até o ponto A, o osso retorna imediatamente ao comprimento original, apesar do descarregamento não seguir o mesmo caminho do processo de carregamento. Quando o carregamento for até o ponto B, o osso não adquire imediatamente as dimensões originais com a carga zero. É necessário tempo mais longo para que ele retorne ao tamanho original. Quando o carregamento for até o ponto C, produz-se uma deformação permanente no osso (ponto D).

No estudo da influência da orientação das fibras de colágeno no comportamento viscoelástico de ósteons, Ascenzi *et al.* (1985) verificaram que fibras longitudinais apresentaram ciclo de histerese mais lar-



Figura 1. Gráfico carga *x* deflexão do ensaio de histerese. A energia de histerese é calculada subtraindo a energia de descarregamento da energia de carregamento. *Figure 1.* Load *x* deflexion curves of hyteresis. The hysteresis energy is calculated by the difference between loading and unloading energy.



Figura 2. Ciclo de histerese em diferentes níveis de carregamento [*De Burstein, A.H.; Wright, T.M. Funda-mentals of orthopaedic biomechanics. Baltimore, Williams & Wilkins, 1994*]. Figure 2. Hysteresis cycle at differents levels of loading [In Burstein, A.H.; Wright, T.M. Fundamentals of orthopaedic biomechanics. Baltimore, Williams & Wilkins, 1994].

go durante a compressão, e ósteons com fibras alternadas, um ciclo mais largo durante a tração.

O aumento da idade é associado a mudanças significativas na morfologia e composição dos ossos (Carter & Spengler, 1978). Conseqüentemente, alterações nas propriedades mecânicas.

Vogel (1979), estudando fêmures de ratos, observou aumento de todos os parâmetros mecânicos entre os animais de 1 a 4 meses de idade, atribuindo a mudança ao processo de maturação. Com um ano de idade todos os parâmetros haviam decrescido, como sendo reflexo da idade ou do envelhecimento. Vogel, no mesmo trabalho, também encontrou grandes diferenças nos parâmetros bioquímicos.

Estudos em ossos inteiros de ratos revelaram que a tensão máxima e a rigidez do osso aumentam com a idade (Ekeland *et al.*, 1981; Ekeland *et al.*, 1982). Outras propriedades, como a absorção da energia de impacto, apresentaram relação inversa com o aumento da idade (Currey, 1979; Currey *et al.*,1996). Zioupos *et al.*, em 1999, atribuíram as diferenças de algumas propriedades mecânicas em indivíduos de idades diferentes, à mudança na concentração de fibras de colágenos.

Buhl *et al.* (2001), estudaram a resposta do tecido ósseo à estimulação mecânica por meio de exercícios físicos em ratos de diferentes faixas etárias. Concluíram que em ossos longos, a resposta fisiológica aos exercícios foi alterada com a idade. Nos animais velhos, a resposta a exercícios de baixa intensidade apresentou-se como uma forma de preservação da massa óssea ao invés de formação óssea, o oposto do que ocorreu nos animais jovens e maduros.

A idade é um parâmetro importante a ser considerado no estudo das propriedades mecânicas dos ossos, pois exerce influência significativa no comportamento mecânico do tecido ósseo. Portanto, a proposta deste trabalho foi analisar o comportamento viscoelástico de fêmures de ratas de diferentes idades, submetidos a ensaios de flexão em três pontos.

Material e métodos

Foram selecionadas ratas matrizes da raça *Wistar*, prenhes e prestes a parir. Após a parturição foram selecionados e deixados 6 filhotes fêmeas para cada mãe e os demais desprezados.

Foi feito o controle da idade dos filhotes a partir do nascimento, e o sacrifício ocorreu aos 25 dias, 65 dias e 365 dias de idade. Com base nos resultados da curva de crescimento obtida por Hoyer e Lippert (1982) e por Fontoura Filho (1995), estas idades foram escolhidas por representarem diferentes etapas do desenvolvimento do fêmur.

Na idade selecionada, os animais foram pesados e sacrificados com excesso de inalação de éter sulfúrico e, depois, os dois fêmures foram retirados, limpos das partes moles e pesados, para então, serem envolvidos em gaze embebida em solução fisiológica e conservados a -20 °C.

De cada par de ossos do mesmo animal, o fêmur esquerdo foi utilizado para realização de ensaio destrutivo de flexão em três pontos, com o objetivo de determinar a carga no limite elástico e a carga máxima. No fêmur direito foi realizado o ensaio de histerese, usado na obtenção das energias de carregamento, descarregamento e histerese, utilizadas para determinar a perda de energia relativa.

O ensaio de histerese consistiu em aplicar carga até um certo valor de carregamento, dentro do limite elástico, e realizar, posteriormente, a retirada da carga na mesma velocidade, até o ponto inicial.

Foram utilizados 90 animais, divididos em três grupos com idades de 25 dias (grupo A), 65 dias (grupo B) e 365 dias (grupo C). Cada grupo foi subdividido em três subgrupos para realização do ensaio de histerese em diferentes níveis de carregamento (Figura 3). No subgrupo I o ensaio de histerese foi até o nível de 40% do limite elástico, para o subgrupo II o nível foi de 60% do limite elástico e 80% para o subgrupo III (Tabela 1), sempre tomando como referência o limite elástico obtido do ensaio do fêmur contralateral de cada animal. A utilização de diferentes níveis de carregamento foi realizada para analisar sua influência no comportamento viscoelástico, dentro da fase elástica.

Para a realização do ensaio de flexão em três pontos foi utilizado o acessório da Figura 4. Devido à diferença no tamanho dos fêmures do grupo A em relação aos grupos B e C (Figura 5), foram utilizadas duas peças com distância diferente entre os apoios (Peças A – Figura 4).

A velocidade utilizada para aplicação de carga foi de 10 mm/minuto, com pré-carga de 200 g para o grupo A e de 300 g para os grupos B e C, e tempo de acomodação de 1 minuto para todos os grupos. Os fêmures foram apoiados nas regiões metafisárias e a carga aplicada na região central de cada osso (Figura 6).

Segundo Funk *et al.* (2000), mudanças no comportamento mecânico dos ossos são influenciadas não somente pelo material, mas também pela forma e tamanho. E uma propriedade que leva em consideração estes dois fatores é a tensão aplicada. Portanto, realizou-se também, o cálculo da tensão máxima aplicada no fêmur esquerdo, pois, o ensaio destrutivo, de onde se obtém o valor da carga máxima, foi realizado somente neste fêmur.

Após os ensaios destrutivos foram realizados cortes transversais nos fêmures na região próxima ao ponto de aplicação da carga e obtidas entre 2 e 4 secções ósseas com espessura de 0,4mm (Figura 7-A). As secções foram lixadas até a espessura aproximada de 0,1 mm, para então, serem posicionadas sobre uma lamínula de vidro e coladas com plástico auto-adesivo transparente Texel[®] (Figura 7-B). Em seguida, foram "escaneadas". Foi utilizado o programa AutoCAD R14[®] para a determinação das propriedades geométricas necessárias para o cálculo da tensão aplicada.

Para a análise estatística foi utilizado o programa *SigmaStat*[®] *v.2.03* e em todos os testes foi usado um nível de significância de 5%.

Resultados

Os valores médios da tensão máxima aplicada estão apresentados na Tabela 2. Na comparação entre os três grupos foi verificado que houve diferença estatisticamente significante ($p \le 0,001$). Também foi constatado que houve diferença estatisticamente significante na comparação entre os grupos A e B ($p \le 0,001$), A e C ($p \le 0,001$) e B e C (p = 0,002). Os testes usados foram o *ANOVA* na comparação entre os três grupos e o teste *t de Student* na comparação entre os pares grupos.

O valor da perda de energia relativa dos fêmures de ratas de 25, 65 e 365 dias de idade, foi obtido de



Figura 3. Desenho esquemático dos níveis de carregamento aplicados a cada subgrupo, de acordo com a carga do limite elástico do fêmur contralateral. Figure 3. Diagram of the loading levels applied in each subgroup, in relation of the yield on opposite side fêmur.

Tabela 1. Divisão e subdivisão dos grupos experimen-tais. Table 1. Animal grouping.

Grupos	Lotes	Número de animais
•	I (40%)	10
A (25 dies)	II (60%)	10
(25 ulas)	III (80%)	10
	Total / grupo	30
P	I (40%)	10
B ((E dias)	II (60%)	10
(65 (1185)	III (80%)	10
	Total / grupo	30
<u>^</u>	I (40%)	10
	II (60%)	10
(365 dias)	III (80%)	10
	Total / grupo	30
	Total de animais	90



Figura 4. Acessório para ensaio de flexão em três pontos. Peças do acessório utilizado para realizar ensaios de flexão em três pontos (I), peças com apoios em distância diferente (A). Conjunto montado do acessório (II). *Figure 4.* Accessorie manufactored for three-point bending tests. Separated parts of the accessory used for three-point bending test (I), piece with different distance between the support points (A). Assembled accessory (II).



Figura 5. Foto dos fêmures de ratas de 25 dias (A), 65 dias (B) e 1 ano de idade (C), ilustrando a diferença de tamanho entre eles. *Figure 5. Picture of the rat femurs at 25 days (A), 65 days (B) and one of age (C) showing the relative sizes.*



Figura 6. Fêmur apoiado na região metafisária com o pino de aplicação de carga posicionado no centro dos apoios. *Figure 6.* Femur supported on the metaphyseal regions with the pin positioned for applying load to the middle part of bone (mid-diaphysis).



Figura 7. Secções transversais retiradas da região diafisária do fêmur (A). Lâmina montada com lamínula e plástico auto-adesivo transparente Texel® (B). *Figure 7. Cross sections obtained from the diaphysis of the femur* (A) and the glass slides prepared for scanning (B).

gráficos carga *x* deflexão, como os ilustrados na Figura 8. E os resultados estão apresentados na Tabela 3.

A comparação estatística do valor médio da perda de energia relativa do grupo A mostrou que não houve diferença estatisticamente significante (p=0,136) quando comparados os três lotes simultaneamente. O mesmo ocorreu na comparação do grupo B (p=0,583) e do grupo C (p=0,177). O teste usado foi o *ANOV*A.

Como não houve diferença estatística entre os lotes de uma mesma faixa etária, foi feita a comparação entre os grupos. A análise estatística (*ANOVA*) mostrou que houve diferença estatisticamente significante entre os grupos (p<0,001), e também quando comparados aos pares (teste *t de Student*) jovem *x* adulto (p≤0,001), adulto *x* senil (p≤0,001) e jovem *x* senil (p≤0,001).

A Figura 9 é uma representação gráfica do comportamento das médias da perda de energia relativa.

Discussão e conclusão

A energia de histerese é também conhecida como propriedade de absorção de energia viscoelástica e só pode ser determinada por meio de ensaios nãodestrutivos (Linde, 1994). Uma parte dessa energia absorvida é dissipada em forma de calor devido ao atrito interno entre as cadeias longas e entrelaçadas de moléculas e, a outra parte, fica armazenada no material na forma de tensão interna, mas que pode ser aliviada com o tempo. Esta propriedade de absorção de energia representa um importante papel para a proteção de ossos e cartilagens (Linde *et al.*, 1989).

No levantamento bibliográfico foi observado um número muito pequeno de trabalhos realizados sobre a energia histerese em ossos e, nenhum trabalho utilizando o rato como animal experimental. Nos trabalhos encontrados, a maioria dos autores utiliza corpos de prova de osso trabecular humano submetidos a ensaio de compressão (Linde e Hvid, 1987; Linde e Hvid, 1989; Linde *et al.*, 1989), o que difere do realizado nesta investigação.

O objetivo deste trabalho surgiu do interesse em analisar a influência da idade na viscoelasticidade e no comportamento de algumas propriedades mecânicas de ossos longos submetidos a ensaio de flexão. E também, servir como base para outros estudos.

Foi escolhido o animal rato pela facilidade de mantê-lo em laboratório, pelo baixo custo e, principalmente, por apresentar crescimento rápido e regular tanto corporal, quanto dos ossos (Fontoura Filho, 1995). Além disto, o fêmur, osso utilizado neste trabaTabela 2. Valores médios das tensões máximas dos fêmures nos três grupos. Table 2. Mean of the ultimate stress for the three groups.

		Tensão máxima (Mpa)	
Lote		Grupo	
	А	В	С
I	67,37	192,00	273,13
П	58,36	234,84	262,48
Ш	65,49	238,27	259,99
Média	64,02	221,71	259,99
Desvio Padrão	14,91	48,91	43,91

Tabela 3. Valores médios da perda de energia relativa dos grupos e subgrupos. *Table 3. Mean of the relative energy loss for the groups and the subgroups*

Grupo -	А			В			C		
	I (%)	II (%)	III (%)	I (%)	II (%)	III (%)	I (%)	II (%)	III (%)
Média	51,2	55,9	60,6	32,4	35,3	33,6	25,7	29,6	25,2
Desvio Padrão	10,7	13,1	5,1	5,5	8,0	4,6	6,2	6,3	3,8



Figura 8. Gráficos dos ensaios de histerese com carregamento até 60% do limite elástico de fêmures de animais representativos de cada grupo. *Figure 8.* Hysteresis loops obtained from loading to 60% of the yielding load at different ages.



Figura 9. Curvas representativas das médias da perda de energia relativa. Figure 9. Mean of the relative energy loss for the three groups.

lho, apresenta pouca variação de animal para animal e tem tamanho e formato adequados para um ensaio mecânico de flexão em três pontos.

De acordo com as curvas de crescimento encontradas por Hoyer & Lippert (1982), as ratas (animais fêmeas) obedecem a uma curva mais uniforme e uma estabilização do crescimento mais precoce quando comparada com a curva de crescimento dos animais machos. Portanto, esta foi a razão de trabalharmos com fêmeas. Além disto, elas são mais dóceis, o que possibilita manter mais de um animal por gaiola.

Para o cálculo das propriedades geométricas, alguns autores como Engesaeter et. al. (1978), Ekeland et al. (1981), Keller et al. (1986) e Funk et al. (2000) modelaram a secção transversal da diáfise do osso como elipses. Para reduzir os erros cometidos com esta aproximação foi desenvolvida para nosso trabalho a metodologia da montagem de lâminas das secções transversais coladas com plástico transparente auto-adesivo, seguida pelo escaneamento (Funk et al., 2000) e por fim, a utilização do programa AutoCAD R14[®] para a determinação das propriedades geométricas como realizado por Mello, em 1999.

Nos ensaios mecânicos, a distância entre os apoios foi menor para o grupo A, em razão da pequena dimensão apresentada pelos ossos desses animais. A comparação da perda de energia relativa entre os grupos foi possível por serem valores percentuais e, no cálculo da tensão máxima aplicada, a distância entre os apoios foi levada em consideração, o que possibilitou a comparação entre todos os grupos.

A tensão máxima encontrada neste trabalho aumentou significativamente com a idade, sugerindo, de acordo com os trabalhos de Burstein *et al.* (1976), Carter e Spengler (1978) e de Vogel (1979), que existam diferenças na composição microestrutural dos ossos de animais de diferentes faixas etárias.

Ding, em 2000, realizou um grande trabalho com osso trabecular e cartilagem de tíbias humanas, relacionando várias propriedades mecânicas, estruturais e físicas (concentração de colágeno e de cinza), com a idade. Uma das propriedades mecânicas analisadas foi a perda de energia relativa, onde, não foi encontrada diferença significativa entre o grupo de jovens (16-39 anos) e o grupo de meia idade (40-59 anos), mas foram significativamente maiores do que o grupo de indivíduos velhos (60-83 anos).

Na comparação com os resultados encontrados em nosso trabalho, fatores como o modelo de animal utilizado, o tipo de ensaio (flexão), a divisão das idades e a utilização de corpos de prova de osso trabecular, devem ser levados em consideração.

Os nossos resultados mostraram que, dentro de uma mesma faixa etária, o aumento do nível de carregamento de 40% para 60% e, depois, para 80% do limite elástico não influenciou a perda de energia relativa. Foi realizada, então, a comparação entre as três faixas etárias, onde se encontrou uma redução significativa da perda de energia relativa com a idade. Esta diferença sugere que existam diferenças na composição microestrutural dos ossos de animais de diferentes faixas etárias, pois, na comparação em valores percentuais, nenhum outro fator exerceu influência no comportamento desta propriedade.

Nos animais de 25 dias, a perda de energia relativa dos fêmures foi muito maior quando comparada com os valores dos fêmures dos animais de 65 dias e 365 dias de idade. Esta grande diferença pode ser devida ao processo de maturação, que segundo Keller *et al.* (1986), em ratos, está diretamente relacionada com grandes mudanças geométricas, estruturais e químicas (densidade e conteúdo de cinza).

A perda de energia relativa é o mesmo que a porcentagem de energia absorvida em relação à energia fornecida dentro da fase elástica, portanto, quanto maior essa perda, maior será a quantidade de energia absorvida. Em animais jovens, isto pode representar uma forma de proteção contra fraturas ou deformações permanentes. Já, em animais senis, esta propriedade pode ser afetada pela perda da massa óssea (Ding, 2000).

Segundo Ding *et al.* (1997), grandes variações nos valores das propriedades mecânicas, em trabalhos de diferentes pesquisadores, podem ser resultados de diferentes protocolos de preparação dos materiais, como a utilização de ossos frescos congelados ou secos e desengordurados (Lindahl, 1976; Carter e Hayes, 1977), armazenados ou congelados (Panjabi *et al.*, 1985; Linde e Sorensen, 1993), geometria do corpo de prova (Carter e Hayes, 1977; Linde *et al.*, 1992), temperatura (Linde, 1994) e a direção do carregamento (Deligianni *et al.*, 1994). Portanto, torna-se difícil a comparação de valores, mas, isto não nos impediu de realizar comparações qualitativas.

Com estes resultados concluímos que o nível de carregamento dentro da fase elástica não influencia a perda de energia relativa, mas, a idade é um fator importante que exerce influências tanto na tensão máxima, como no comportamento da perda de energia relativa dos fêmures de ratas submetidos a ensaios de flexão em três pontos. Os resultados obtidos com esta pesquisa deram origem a outras indagações, ficando evidente a necessidade de novos estudos com novos resultados que, somados aos aqui obtidos levarão a uma melhor compreensão dos fenômenos que ocorrem nos tecidos ósseos quando solicitados mecanicamente.

Bibliografia

- Ascenzi, A.; Benvenuti, A.; Mango, F.; Simili, R. (1985). Mechanical hysteresis loops from single osteon: technical devices and preliminary results. *Journal of Biomechanics*, v. 18, n. 5, p. 391-398.
- Buhl, K.; Jacobs, C.R.; Turner, R.T.; Evans, G.L.; Farrell, P.A. Donahue, H.J. (2001), "Aged bone displays an increased responsiveness to low-intensity resistance exercise", J Appl Phys, v.90, n.4, p. 1359-1364.
- Burstein, A.H.; Wright, T.M. (1994), "Fundamentals of orthopaedic biomechanics", Baltimore, Williams & Wilkins.
- Burstein, A.H.; Reilly, D.T.; Martens, M. (1976), "Aging of bone tissue: mechanical properties", J Bone and Joint Surg, v.58-A, n. 1, Jan., p. 82-86.
- Carter, D.R.; Hayes, W.C. (1977), "The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure", *J Bone and Joint Surg*, v. 59-A, n. 7, p. 954-962.
- Carter, D.R.; Spengler, D.M. (1978), "Mechanical properties and composition of cortical bone", *Clin Orthop Rel Res*, n. 135, p. 192-217, sept.
- Currey, J.D. (1979), "Changes in impact energy absorption of bone with age", *J Biomech*, v. 12, p. 459-469.
- Currey, J.D.; Brear, K.; Zioupos, P. (1996), "The effects of ageing and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. Technical note", *J Biomech*, v. 29, n. 2, p. 257-260.
- Delligiani, D.D.; Maris, A.; Missirlis, Y.F. (1994), "Stress relaxation behavior of trabecular bone specimens", *J Biomech*, v. 27, n. 12, p. 1469-1476.
- Ding, M. (2000), "Age variations in the properties of human tibial trabecular bone and cartilage", *Acta Orthop Scand*, v. 71, suppl. 292.
- Ding, M.; Dalstra, M.; Danielsen, C.C.; Kabel, J.; Hvid, I.; Linde, F. (1997), "Age variations in the properties of human tibial trabecular bone", *J Bone and Joint Surg*, v. 79-B, n. 6, p. 995-1002, nov.
- Ekeland, A.; Engesaeter, L.B.; Langeland, N. (1981),
 "Mechanical properties of fractured and intact rat femora evaluated by bending, torsional and tensile tests", *Acta Orthop Scand*, n. 52, p. 605-613.
- Ekeland, A.; Engesaeter, L.B.; Langeland, N. (1982),
 "Influence of age on mechanical properties of healing fractures and intact bones in rats", *Acta Orthop Scand*, n. 53, p. 527-534.
- Engesaeter, L.B.; Ekeland, A.; Langeland, N. (1978), "Methods for testing the mechanical properties of the rat fêmur", *Acta Orthop Scand*, n. 49, p. 512-518.
- Fontoura Filho, C. (1995), "Ensaio de cisalhamento na placa de crescimento proximal da tíbia de ratas em idades diferentes", Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

- Funk, J.R.; Hale, J.E.; Carmines, D.; Gooch, H.L.; Hurwitz, S.R. (2000), "Biomechanical evaluation of early fracture healing in normal and diabetic rats", *J Orthop Res*, v. 18, p. 126-132.
- Hoyer, H.E.; Lippert, H. (1982), "Biomechanical changes in long limb bones of HAN-Wistar rats during postnatal development", *Anat and Embr*, v. 164, p. 101-111.
- Keller, T.S.; Spengler, D.M.; Carter, D.R. (1986), "Geometric, elastic, and strutural properties of maturing rat femora", J Orthop Res, v. 4, p. 57-67.
- Lindahl, O. (1976), "Mechanical properties of dried defatted spongy bone", Acta Orthop Scand, v. 47, p. 11-19.
- Linde, F. (1994), "Elastic and viscoelastic properties of trabecular bone by a compression testing approach", *Danish Med Bull*, v. 41, n. 2, p. 119-138.
- Linde, F.; Hvid, I. (1987), "Stiffness behaviour of trabecular bone specimens", *J Biomech*, v. 20, p. 83-89.
- Linde, F.; Hvid, I. (1989), "The effect of constraint on the mechanical behavior of trabecular bone specimens", J Biomech, v. 22, n. 5, p. 485-490.
- Linde, F.; Hvid, I.; Madsen, F. (1992), "The effect of specimen geometry on the mechanical behaviour of trabecular bone specimens", J Biomech, v. 25, p. 359-368.
- Linde, F.; Hvid, I.; Pongsoipetch, B. (1989), "Energy absorptive properties of human trabecular bone specimens during axial compression", J Orthop Res, v. 7, n. 3, p. 432-439.
- Linde, F.; Sorensen, H.C. (1993), "The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone" *J Biomech*, v. 26, p. 1249-1252.
- Mello, L.C.P. (1999), "Análise das propriedades mecânicas dos fêmures de coelhos submetidos a dietas com diferentes concentrações de flúor", Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado) – Interunidades Bioengenharia, Universidade de São Paulo.
- Panjabi, M.M.; Krag, M.; Summers, D.; Videman, T. (1985), "Biomechanical time-tolerance of fresh cadaveric human spine specimens", *J Orthop Res*, v. 3, p. 292-300.
- Sedlin, E.D. (1965), "A rheologic model for cortical bone. A study of the physical properties of human femoral samples", Acta Orthop Scand, Supplementum 83.
- Vogel, H.G. (1979), "Influence of maturation and aging on mechanical and biochemical parameters of rat bone", *Gerontology*, v. 25, p. 16-23.
- Zioupos, P.; Currey, J.D.; Hamer, A.J. (1999), "The role of collagen in the declining mechanical properties of aging human cortical bone", *J Biomed Mat Res*, v. 45(2), p. 108-116.

97