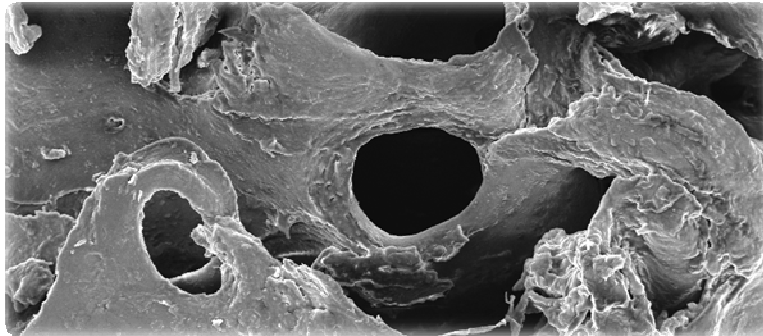




INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO
Universidade Técnica de Lisboa



EFEITO DA OSTEOPOROSE E DA OSTEOARTROSE NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS DO OSSO TRABECULAR

Miguel Angel do Monte Lúcio

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Júri

Presidente: Professor Doutor Hélder Carriço Rodrigues
Orientadores: Professora Doutora Maria de Fátima Vaz (IST)
Professor Doutor João Eurico Fonseca (FML)
Vogal: Professor Doutor João Gamelas

Setembro 2008

Resumo

No presente trabalho, foi efectuada uma avaliação dos efeitos da osteoporose (OP) e da osteoartrose (OA) nas propriedades mecânicas e estruturais do osso trabecular. As cabeças de fémur foram obtidas a partir de pacientes de ambos os géneros que foram submetidos a uma artroplastia total da anca, quer por fractura do colo do fémur atribuída a OP, quer por OA da anca. Utilizando uma perfuradora mecânica, amostras cilíndricas de osso trabecular foram obtidas e submetidas a compressão. Medições da espessura cortical e do diâmetro das cabeças de fémur foram realizadas, bem como da densidade do osso trabecular. A partir dos testes biomecânicos foi claro que o osso OP tem como seria esperado, piores propriedades mecânicas. Estes resultados não são contudo reflectidos pela diferença de densidade, o que indica que a qualidade do osso é mais importante do que a sua quantidade. Comparando géneros, é claro que em osso OP, as mulheres possuem piores propriedades mecânicas em relação aos homens. O diâmetro da cabeça do fémur parece ter uma grande influência, pelo menos em mulheres, na susceptibilidade de desenvolver OP. Foi efectuada uma caracterização estrutural usando microscopia óptica (MO) e microscopia electrónica de varrimento (SEM). A partir das imagens SEM, observou-se a estrutura celular do osso trabecular antes e depois dos testes de compressão, o que permitiu alguma compreensão da forma como a cedência das estruturas em forma de hastes e de placas ocorrem. Efectuaram-se medições ao nível da estrutura trabecular usando imagens de SEM e MO, e uma relação parcial foi encontrada com as propriedades mecânicas. As duas estruturas principais do osso trabecular, hastes e placas perfuradas, têm diferentes graus de resistência à solicitação mecânica, o que sugere que estas possuem diferentes funções na organização trabecular.

Palavras-chave

Osteoporose; Osteoartrose; Osso trabecular; Ensaio de compressão; Microscopia electrónica de varrimento; Microscopia Óptica.

Abstract

In the present work, an evaluation of osteoporosis (OP) and osteoarthritis (OA) effects on the mechanical and structural properties of trabecular bone was made. Femoral heads were obtained from patients of both genders, who underwent total hip arthroplasty, due either to a low energy fractured neck of the femur presumably related to OP or to hip osteoarthritis. Using a mechanical drilling machine, cylindrical samples were collected and submitted to compression. Measures of the cortical thickness and diameter of the femoral heads were taken, as well as assessment of the density of trabecular bone. From the biomechanical compression tests, it was clear that the OP bone has, as expected, worst mechanical properties. These results aren't, however, reflected by the difference in the density, which indicates that the quality of bone is more important than the quantity of bone for its overall mechanical performance. Comparing genders, it's clear that in OP bone, females have lower mechanical properties than males. The femoral head diameter seems to have a large influence, at least in women, in the susceptibility to develop OP. Structural characterization was performed with optical and scanning electron microscopy (OM and SEM). From the SEM's images, the cellular structure of trabecular bone before and after the compressive tests was observed, which allowed understanding the yielding process of the rod-like and the plate-like structures. Measurements of structural properties were made using SEM and OM images. A partial relation was found between the structural measurements from the microscopic images and the biomechanical results, which accentuate the importance of qualitative parameters in the characterization of trabecular bone. The two main trabecular structures, rods and perforated plates, have different degrees of resistance to mechanical solicitation, which suggests that they play different roles in the trabecular organization.

Key Words

Osteoporosis; Osteoarthritis; Trabecular bone; Compressive tests; Scanning electron microscopy; Optical Microscopy.

Índice de Figuras

Figura 1. Representação esquemática do osso cortical e do osso trabecular (adaptado) [3].....	2
Figura 2. Representação da estrutura interna de um osso longo (adaptado) [3]	2
Figura 3. Esquema simplificado da remodelação óssea (adaptado) [7].	3
Figura 4. Mecanismo simplificado de osteoclastogénese (adaptado) [8].	4
Figura 5. Comparação entre a matriz óssea de osso normal e osso osteoporótico (adaptado) [12].	4
Figura 6. Fractura do colo do fémur (adaptado) [13].	5
Figura 7. Esquematisação de uma articulação sinovial: a articulação da anca (adaptado) [18].	6
Figura 8. Efeito da osteoartrose numa articulação (adaptado) [21]	7
Figura 9. Comparação entre um mapa de distribuição de tensões (à direita), e uma representação da estrutura celular (à esquerda) para a zona superior do fémur (adaptado) [31]	10
Figura 10. Modelos de Gibson e Ashby para (a) baixa e (b) alta densidade (adaptado) [31]. ...	10
Figura 11. Curvas tensão-extensão característica da compressão de osso trabecular, para diversas densidades relativas (adaptado) [31].	11
Figura 12. (a) Estrutura celular aberta antes da compressão (b) Flexão das arestas de uma célula aberta durante a deformação linear (c) estrutura celular volta ao estado inicial após remoção da força aplicada (adaptado) [32].	12
Figura 13. Módulo de Young de osso trabecular em função da densidade relativa. Valores utilizados para a normalização: $E_s = 12 \text{ GPa}$ e $\rho_s = 2000 \text{ kg/m}^3$ (adaptado) [32].	13
Figura 14. Modelos tridimensionais dos modos de colapso celular de uma célula aberta. Modos de colapso: (a) encurvadura elástica; (b) deformação plástica; (c) fractura frágil. σ_s corresponde à tensão de cedência do material que constitui as paredes celulares (adaptado) [32].	14
Figura 15. Tensão de cedência de osso trabecular em função da densidade relativa. Valores utilizados para a normalização: $\sigma_{ys} = 136 \text{ MPa}$ e $\rho_s = 2000 \text{ kg/m}^3$ (adaptado) [32].	15
Figura 16. Esquema simplificado do mecanismo inerente a um ensaio de compressão (adaptado) [34].	16
Figura 17. Corpo com comprimento inicial L , sujeito a um esforço axial F que provoca uma deformação ΔL (adaptado) [1].	17
Figura 18. Ponto de cedência em curvas σ - ϵ . (a) Curva com ponto de cedência visível, (b) curva sem cedência visível, em que se utilizou uma deformação permanente de 0.2% (adaptado) [1].	18
Figura 19. Área correspondente à energia absorvida até ao ponto de cedência.	19
Figura 20. Tipos de radiação resultantes da interacção do feixe de electrões com a amostra e volume de emissão para as diferentes radiações (adaptado) [40].	21
Figura 21. Exemplo da medição do diâmetro de uma cabeça de fémur com um paquímetro digital, segundo um dos planos.	23
Figura 22. Furadora utilizada na extracção de cilindros das cabeças de fémur.	24
Figura 23. Esquema que mostra o local onde se extraíram os cilindros de osso trabecular (adaptado) [24].	24
Figura 24. Sequência de imagens ilustrativas da extracção do espécime de osso trabecular a ensaiar	25

Figura 25 (a) Serra utilizada na extracção dos topos dos cilindros extraídos, (b) Corte de um dos topos de um cilindro de osso trabecular, utilizando um tubo Falcon de 15 mm como suporte. .	26
Figura 26 (a) Polideira Struers DAP-V utilizada no polimento das superfícies dos cilindros de osso trabecular, (b) Polimento da superfície de um cilindro de osso trabecular.	26
Figura 27. Agitadora utilizada durante o processo de de-fatting dos cilindros de osso trabecular.	27
Figura 28. Balança semi-analítica utilizada na medição das massas no cálculo das densidades.	27
Figura 29. Máquina de ensaios mecânicos Instron 5566 utilizada, com vídeo-extensómetro acoplado.	28
Figura 30. Ambiente de trabalho do software Bluehill.....	28
Figura 31. Medição da altura de um cilindro de osso trabecular utilizando um paquímetro digital.	29
Figura 32. Dispositivo de compressão utilizado.	29
Figura 33. Cilindro de osso trabecular durante a compressão.	30
Figura 34. Imagens obtidas através da câmara do vídeo-extensómetro durante o ensaio de compressão. (a) Antes do início do ensaio, com as duas marcas detectadas delimitadas pelos rectângulos vermelhos, (b) e (c), durante a compressão, (d) depois do ensaio terminado.....	30
Figura 35. (a) Discos de metal antes de coladas as amostras, (b) discos de metal já com as amostras fixadas.	31
Figura 36. (a) Metalizadora utilizada para metalizar as amostras, (b) amostras já revestidas com uma camada de ouro.....	31
Figura 37. Imagem do microscópio electrónico de varrimento: <i>Analytical SEM: Hitachi S2400</i> , existente nas instalações do Departamento de Engenharia de Materiais do Instituto Superior Técnico e ICEMS.	32
Figura 38. Cassetes com amostras de osso trabecular no interior, submersas na solução descalcificante.	32
Figura 39. Processador automático de tecidos existente no IMM.	33
Figura 40. Máquina de adição de parafina.....	34
Figura 41. (a)Placa de arrefecimento, (b) blocos de parafina no final do protocolo.	34
Figura 42. Micrómetro utilizado para obter as fatias com a espessura desejada.....	34
Figura 43. Curvas σ - ϵ obtidas para as diversas amostras ensaiadas, agrupadas tendo em conta o tipo de sawbone e a densidade. (a)Grupo 1:SRPF, $\rho=0.32\text{g/cm}^3$; Grupo 2: CRPF, $\rho=0.16\text{g/cm}^3$; Grupo 3: SRPF, $\rho=0.24\text{g/cm}^3$; Grupo 4: CRPF, $\rho=0.32\text{g/cm}^3$; Grupo 5:SRPF, $\rho=0.16\text{g/cm}^3$; Grupo 6: CRPF, $\rho=0.20\text{g/cm}^3$	37
Figura 44. Exemplificação da determinação da tensão de cedência num caso com cedência visível.	38
Figura 45. Exemplo da obtenção do módulo de elasticidade recorrendo a um ajuste linear na zona de comportamento elástico.	38
Figura 46. A azul, indica-se a área abaixo do troço da curva σ - ϵ até ao ponto de cedência, que corresponde à energia absorvida e que é calculada pelo software utilizado.....	39
Figura 47. Exemplo de curvas obtidas para dois cilindros de osso trabecular ensaiados, utilizando o vídeo-extensómetro para medir a extensão ao longo da aplicação da carga.	42
Figura 48. Curvas σ - $\epsilon_{\text{vídeo}}$ e σ - $\epsilon_{\text{travessão}}$, obtidas para um a compressão do mesmo cilindro de poliuretano.....	44

Figura 49. Curvas σ - ϵ_{video} e σ - $\epsilon_{\text{travessão}}$ obtidas para a compressão de 4 cilindros provenientes de cada um dos grupos considerados (axial strain equivale a ϵ_{video} e compressive strain a $\epsilon_{\text{travessão}}$	49
Figura 50. Gráficos de barras com os valores médios determinados para cada um dos parâmetros avaliados e respectivos desvios padrão.....	50
Figura 51. Distribuição dos módulos de elasticidade reais calculados das várias amostras de cada grupo.....	50
Figura 52. Ajuste logarítmico dos valores experimentais obtidos para compressão dos cilindros de osso trabecular. Em cima, tensão de cedência relativa versus densidade relativa e em baixo Módulo de Elasticidade relativo versus densidade relativa. Em ambos os casos os valores encontram-se normalizados por valores de módulo de Young ($E/12\text{GPa}$), tensão de cedência ($\sigma/136\text{MPa}$) e densidade ($\rho/2\text{g/cm}^3$), relativos ao osso que forma as paredes das trabéculas.	52
Figura 53. Relação entre as propriedades mecânicas encontradas para cada amostra e o diâmetro da cabeça de fêmur normalizada pela altura do paciente. Em ambos os casos o ajuste realizado é linear e é relativo apenas às fracturas. (a) Tensão de cedência; (b) Módulo de elasticidade.....	54
Figura 54. Imagens de osso trabecular de fracturas femininas obtidas através de SEM com uma ampliação de 20x. (a) Bm11, (b) BM13, (c) BM14, (d) BM32, (e) BM131.	56
Figura 55. Imagens de osso trabecular de indivíduos do sexo feminino com coxartrose obtidas através de SEM com uma ampliação de 20x. (a) BM34, (b) BM106.....	57
Figura 56. Imagens de osso trabecular de indivíduos do sexo feminino com coxartrose obtidas através de MO com uma ampliação de 10x. (a) BM18, (b) BM73, (c) BM74.	57
Figura 57. Estrutura trabecular com placas perfuradas. (a) Imagem SEM da amostra BM131 (OP), ampliação 50x, (b) detalhe de uma imagem SEM da amostra 131 (OP), ampliação 50x, (c) detalhe de uma imagem SEM da amostra 106 (cOA), ampliação 50x.	58
Figura 58. Estrutura trabecular constituída por hastes conectadas entre si, criando uma estrutura celular. (a) Imagem SEM da amostra BM32 (OP), ampliação 50x, (b) Imagem SEM da amostra BM131 (OP), ampliação 50x, (c) Imagem SEM da amostra BM11 (OP), ampliação 50x.	59
Figura 59. Imagens SEM de amostras de osso trabecular de pacientes que sofreram fractura, depois de ensaiadas em compressão, com uma ampliação de 20x. (a) BM13, (b) BM14, (c) BM53, (d) BM131, (e) BM149.	61
Figura 60. Imagens SEM de amostras de osso trabecular, de pacientes com coxartrose, depois de ensaiadas em compressão com uma ampliação de 20x. (a) BM34, (b) BM106.	62
Figura 61. Pormenor de Imagens SEM do local de quebra de hastes trabeculares. (a) e (c) amostra BM14(OP), ampliação 50x, (b) amostra BM53(OP), ampliação 50x.	63
Figura 62. (a) e (b) Pormenor de Imagens SEM com ampliação de 50x da amostra BM53(OP), onde podemos ver placas de osso trabecular danificadas pela solitação mecânica sofrida ,(c) ampliação da figura (a) destacando uma fissura numa placa trabecular.	64
Figura 63. Imagens SEM com ampliação de 50x onde se pode observar hastes trabeculares fracturadas, e placas aparentemente sem dano. (a) amostra Bm149 (OP), (b) amostra BM53(OP).	65
Figura 64. Gráficos de dispersão semelhantes ao da figura 52, acompanhados pela representação do ajuste usando $c1=0.1$ e $n=3$	69
Figura 65. Ajuste logarítmico dos valores experimentais obtidos para compressão dos cilindros de osso trabecular. Em cima, tensão de cedência relativa versus densidade relativa e em baixo Módulo de Elasticidade relativo versus densidade relativa. Em ambos os casos os valores encontram-se normalizados por valores de módulo de Young ($E/6\text{GPa}$), tensão de cedência ($\sigma/25\text{MPa}$) e densidade ($\rho/2\text{g/cm}^3$), relativos ao osso que forma as paredes das trabéculas.	70

Índice de Tabelas

Tabela 1. Resumo das propriedades materiais fornecidas e determinadas para cada uma das amostras ensaiadas.	40
Tabela 2. Síntese dos dados obtidos relativos aos testes nos 4 cilindros de poliuretano.	44
Tabela 3. Síntese dos dados obtidos relativos aos ensaios de compressão em cilindros de osso trabecular.	45
Tabela 4. Detalhes dos grupos de cabeças de fêmur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando géneros da mesma patologia.	46
Tabela 5. Detalhes dos grupos de cabeças de fêmur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando patologias do mesmo género.	47
Tabela 6. Detalhes dos grupos de cabeças de fêmur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando fracturas e coxartroses de forma global.	47
Tabela 7. Resumo das propriedades mecânicas obtidas para os diferentes grupos considerados: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), comparando sexos com a mesma patologia.	48
Tabela 8. Resumo das propriedades mecânicas obtidas para os diferentes grupos considerados: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), comparando patologias do mesmo sexo.	48
Tabela 9. Resumo das propriedades mecânicas obtidas: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), considerando fracturas e coxartroses de forma global.	48
Tabela 10. Dados dos doentes protocolados.	53
Tabela 11. Número de amostras estudadas e número de imagens analisadas de cada grupo.	55
Tabela 12. Idade e propriedades relevantes determinadas para cada uma das amostras, e valores médios para os grupos com fractura do colo do fêmur e com coxartrose.	60

Abreviaturas

A – Área;
cOA - coxartrose,
E – Módulo de elasticidade (módulo de Young);
E_s – Módulo de elasticidade estrutural das paredes de osso trabecular;
E_{travessão} - Módulo de elasticidade medido usando o deslocamento do travessão.
E_{video} - Módulo de elasticidade medido usando a extensão medida pelo vídeo-extensómetro;
E_{real} – Módulo de elasticidade real;
Δl – Deslocamento;
F – Força;
FML – Faculdade de Medicina de Lisboa;
ICEMS - Instituto de Ciência e Engenharia de Materiais e Superfícies;
IMM – Instituto de Medicina Molecular;
IST – Instituto Superior Técnico;
M-CSF – *Macrophage Colony Stimulating Factor*;
MO- Microscopia Óptica;
OA- Osteoartose;
OP – Osteoporose;
OPG – Osteoprotegrina;
RANK – receptor de activação do factor nuclear κB;
RANKL – RANK ligando;
SEM – *Scanning Electron Microscopy*;
V – volume;
W – Energia;
W_{ced} – Energia absorvida até à tensão de cedência;
σ – Tensão;
σ_s – Tensão de colapso estrutural das paredes de osso trabecular;
σ_{ced} – Tensão de cedência;
ε – Extensão;
ε_{video} – Extensão medida pelo vídeo-extensómetro
ε_{travessão} – Extensão medida pelo deslocamento do travessão.
ρ – Densidade;
ρ_s – Densidade estrutural das paredes de osso trabecular;
h – altura;
d – Diâmetro;
r² – coeficiente de regressão linear;

Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Osso	1
1.1.1 Considerações gerais.....	1
1.1.2. Remodelação óssea.....	3
1.2. Patologias envolvidas neste trabalho.....	4
1.2.2. Osteoartrose.....	6
1.2.3. Relação entre a osteoartrose e a osteoporose	7
1.3 Estrutura e comportamento mecânico do osso trabecular.....	9
1.3.1. Propriedades mecânicas do osso trabecular	11
1.4. Ensaio de Compressão	15
1.4.1. Considerações práticas sobre os ensaios de compressão.....	19
1.4.1.1. Método de compressão	19
1.5. Microscopia electrónica de varrimento (SEM)	21
2. Materiais e métodos	23
2.3.2 Microscopia óptica	32
2.4. Análise Estatística	35
3. Resultados.....	36
3.1. Análise do efeito das variações das dimensões das amostras em ensaios de compressão. ...	36
3.2. Determinação do factor para a correcção da complacência da máquina de ensaios mecânicos.	42
3.3. Ensaio de compressão em cilindros de osso trabecular	46
3.3.1. Aplicação do modelo de Gibson e Ashby	51
3.3.2. Cruzamento dos resultados dos ensaios de compressão com os dados dos doentes cl clinicamente avaliados	53
3.4. Análise microscópica.....	55
3.4.1. Amostras não ensaiadas.....	55
3.4.2. Amostras ensaiadas	60
4. Discussão dos resultados	65
4.1. Análise do efeito das variações das dimensões das amostras em ensaios de compressão. ...	65
4.2. Determinação do factor para a correcção da complacência da máquina de ensaios mecânicos.	66
4.3. Ensaio de compressão	67
4.3.1. Aplicação do modelo de Gibson e Ashby.....	68
4.3.2. Cruzamento dos resultados dos ensaios de compressão com os dados dos doentes cl clinicamente avaliados	70
4.4.1. Análise microscópica - Amostras não ensaiadas.....	71
4.4.2. Análise Microscópica – Amostras ensaiadas	72
5. Conclusões e sugestões para trabalho futuro.....	72
6. Referências bibliográficas	74

1. Introdução

A avaliação das propriedades estruturais e mecânicas do osso é da maior importância do ponto de vista biológico e clínico. Muitos aspectos relativos a doenças como a osteoporose e a osteoartrose e a sua influência nas propriedades ósseas estão ainda por clarificar. É para a clarificação destes aspectos que este trabalho pretende contribuir.

1.1 Osso

1.1.1 Considerações gerais

O osso é um tecido altamente especializado que, embora aparente estar num estado imobilizado e petrificado, possui funções fisiológicas fundamentais [1]. Cada osso é considerado por si só como um órgão, visto ser constituído por diversos tecidos diferentes, que actuam em conjunto: tecido ósseo, cartilagem, tecido conjuntivo denso, epitélio, tecido hematopoiético, tecido adiposo e tecido nervoso [2]. O tecido ósseo e o sistema esquelético são responsáveis por várias funções básicas, tais como suporte, protecção, armazenamento de minerais, produção de células sanguíneas e armazenamento de energia química [2]. As suas características ao nível da rigidez, elasticidade (moderada), plasticidade (muito limitada) e fragilidade fazem dele um tecido ideal tanto para o movimento como para o suporte e para a protecção dos tecidos moles [1]. O osso consiste principalmente numa matriz óssea, na qual se distinguem dois tipos de componentes: a matriz orgânica e as substâncias minerais. Esta matriz fornece força e estabilidade ao osso. A matriz orgânica consiste maioritariamente em fibras de colagénio tipo I, organizadas de forma ordenada, que representam 90% de toda a matriz. O colagénio tipo I consiste numa hélice tripla de dois monómeros de colagénio $\alpha 1$ e um monómero $\alpha 2$. Os 10% restantes são constituídos por proteínas diferentes, como os proteoglicanos e os fosfolípidos. A substância mineral é a hidroxiapatite de cálcio [1,3].

Os elementos celulares remodelam continuamente o osso de modo a permitir o seu crescimento e a sua adaptação às tensões de carregamento aplicadas [3]. Consideram-se 4 tipos de células presentes no tecido ósseo: células osteogénicas, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. As células osteogénicas diferenciam-se em osteoblastos e encontram-se na porção interna do perióstio e no endóstio; os osteoblastos são responsáveis pela formação do osso e estão localizadas na superfície deste, sintetizando colagénio e outros componentes orgânicos necessários para construir o tecido ósseo; os osteócitos diferenciam-se a partir dos osteoblastos, são as células mais abundantes no osso e são responsáveis pela manutenção do metabolismo diário do osso, nomeadamente a troca de nutrientes e produtos catabólicos com o sangue; os osteoclastos são células de grandes dimensões que possuem enzimas lisossomais que participam na destruição da matriz óssea, num processo denominado reabsorção [2].

O osso é constituído por dois tipos de tecidos ósseos principais: osso cortical e osso trabecular. O osso cortical, ou compacto, constitui a camada exterior de todos os ossos e representa cerca de 80% da massa óssea total. No caso dos ossos longos, grupo onde se inclui o fémur, o osso

cortical constitui também uma parte do interior do corpo destes ossos. É um tecido denso composto maioritariamente por mineral ósseo e elementos da matriz extracelular, interrompidos apenas por vasos sanguíneos penetrantes e osteócitos [3]. Este tecido proporciona protecção e suporte, e ajuda os ossos longos a resistirem à tensão aplicada pelo peso do corpo [2]. A unidade fundamental do osso cortical é o osteon – ou sistema haversiano, que é uma estrutura em forma de tubo que consiste num canal Harversiano, rodeado por lamelas em forma de anel (figura 1) [3].

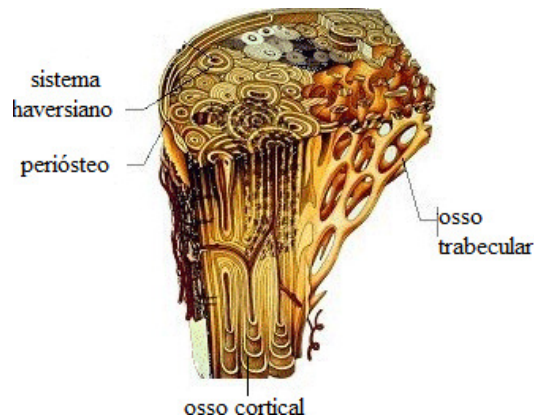


Figura 1. Representação esquemática do osso cortical e do osso trabecular (adaptado) [3].

O osso trabecular, ou esponjoso, constitui cerca de 20% da massa óssea total, e é encontrado por exemplo na epífise e metáfise de ossos longos e na medula dos ossos chatos. Este tipo de osso, ao contrário do osso cortical, possui uma aparência esponjosa [2,3]. A unidade constituinte do osso trabecular é a trabécula, um entrelaçado irregular de finas colunas de osso, revestido em várias áreas por osteoblastos e osteoclastos, que fazem com que este osso esteja constantemente a ser renovado, a um ritmo muito superior ao do osso cortical [2,3]. A principal diferença entre osso compacto e trabecular assenta contudo na sua porosidade, que no osso compacto varia entre os 5 e os 30% (densidade aparente aproximadamente igual a $1,8 \text{ g/cm}^3$) e no osso trabecular entre os 30% e mais de 90% (densidade aparente entre $0,1$ e $0,9 \text{ g/cm}^3$) [1].

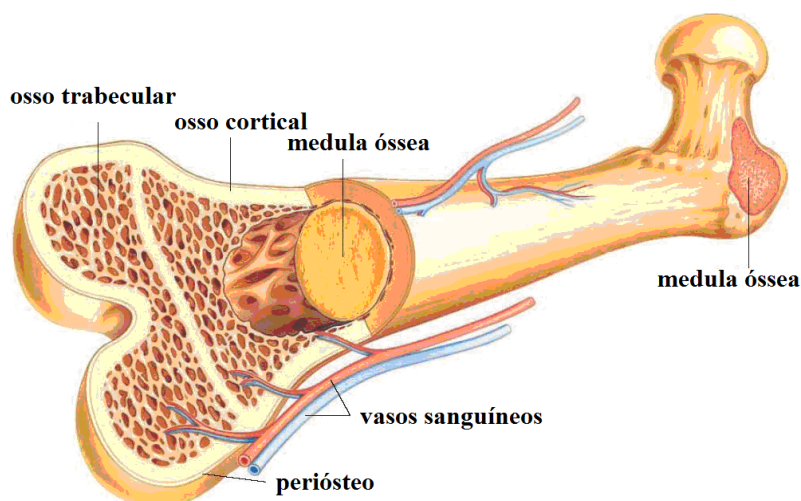


Figura 2. Representação da estrutura interna de um osso longo (adaptado) [3]

1.1.2. Remodelação óssea

Como já foi referido, o osso é um tecido dinâmico, que está constantemente a ser remodelado, mesmo depois do crescimento do esqueleto estar completo [4]. A remodelação do osso é uma função normal do osso e assegura o equilíbrio do metabolismo do cálcio e do fósforo e também a reparação de microdanos do osso. [5]

Este processo é baseado na acção conjugada de células que reabsorvem localmente osso velho, os osteoclastos, e células que formam novo osso, os osteoblastos [6].

O processo de remodelação tem início após a sinalização entre a matriz óssea e os osteoclastos, geralmente determinada por microtraumatismos ósseos. Os osteoblastos aderem à matriz do tecido ósseo, e formam uma interface osso/osteoclasto. O osteoclasto cria assim um microambiente isolado, acidificado, para onde libertam enzimas proteolíticas, que induz a destruição da matriz orgânica e inorgânica do osso. Pouco depois deste processo de reabsorção terminar, osteoblastos surgem na mesma superfície, formando novo osso, preenchendo as lacunas de reabsorção produzidas pelos osteoclastos com nova matriz óssea, inicialmente não mineralizada, designada por osteoide. Alguns dos osteoblastos são encapsulados na matriz orgânica extracelular e diferenciam-se em osteócitos. Os restantes osteoblastos continuam a sintetizar osso e revestem completamente a superfície óssea recentemente formada (figura 3) [6].

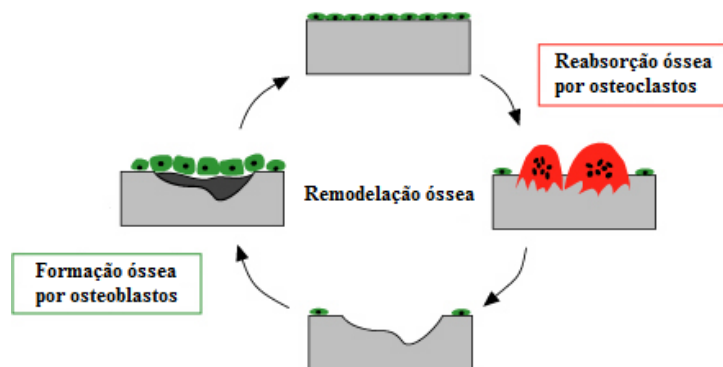


Figura 3. Esquema simplificado da remodelação óssea (adaptado) [7].

A remodelação óssea é regulada por hormonas sistémicas e factores locais, que afectam tanto a actuação dos osteoblastos como dos osteoclastos [4]. O conceito actual de remodelação óssea assenta na ideia de activação e diferenciação dos precursores osteoclásticos, iniciando-se assim o processo de reabsorção óssea [4]. A regulação da osteoclastogénese, isto é, a diferenciação do osteoclasto, é modelada pelo factor de estimulação das colónias de macrófagos (M-CSF) e pelo RANKL (ligando do receptor de activação do factor nuclear κB , RANK) produzido pelos osteoblastos. O RANKL liga-se ao RANK presente na membrana do osteoclasto, estimulando a diferenciação do precursor do osteoclasto em osteoclasto maduro [3]. Em contraste, a osteoprotetegerina (OPG), produzida também pelo osteoblasto, bloqueia a formação de osteoclastos, ligando-se ao RANKL, com o qual tem grande afinidade, impedindo que este se ligue ao RANK e inibindo a osteoclastogénese (figura4) [4,5].

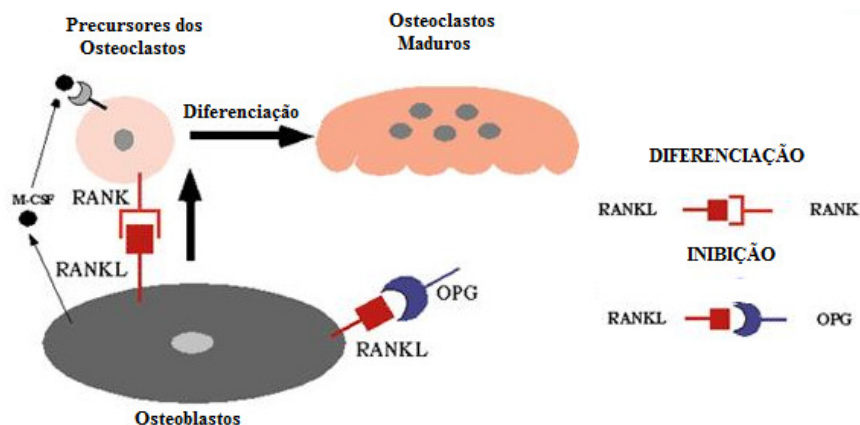


Figura 4. Mecanismo simplificado de osteoclastogênese (adaptado) [8].

O balanço entre a produção de RANKL e de OPG determina a quantidade de osso que é reabsorvida [5]. Existem outros agentes participantes neste processo, nomeadamente a hormona paratiroideia (PTH) e a vitamina D, que modelam o comportamento dos osteoblastos [3].

1.2. Patologias envolvidas neste trabalho

1.2.1. Osteoporose

A osteoporose (OP) é uma doença esquelética sistémica, muito frequente, com uma forte componente genética [5,9-11]. É caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração da microestrutura do tecido ósseo. Tal repercute-se numa diminuição da resistência do osso e conseqüente aumento do risco de fractura. As fracturas osteoporóticas, particularmente as fracturas do colo do fémur estão associadas a aumento da morbilidade e mortalidade.

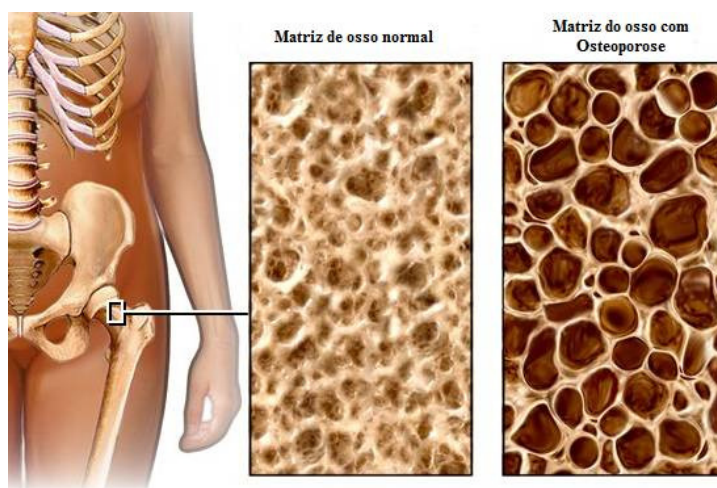


Figura 5. Comparação entre a matriz óssea de osso normal e osso osteoporótico (adaptado) [12].

A OP é considerada um grave problema de saúde pública, afectando milhões de pessoas em todo o mundo, e com custos associados muito elevados. Esta situação tende a agravar-se com o

aumento da esperança média de vida, já que a prevalência da OP aumenta com a idade, verificando-se uma maior incidência em pessoas com mais de 65 anos [5,9-11]. Na figura 5 pode observar-se a estrutura da matriz óssea normal e a do osso osteoporótico. Locais comuns para a fractura osteoporótica são a coluna vertebral, a anca, o antebraço distal e o úmero proximal [11]. No caso específico da fractura da anca, esta causa dor, perda de função e uma diminuição drástica da qualidade de vida, e quase sempre obriga a hospitalização, sendo a recuperação lenta e a reabilitação muitas vezes incompleta.

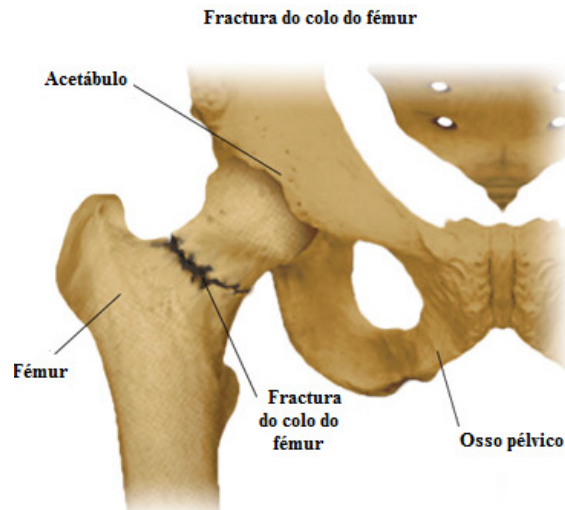


Figura 6 . Fractura do colo do fémur (adaptado) [13].

A etiopatogenia da osteoporose ainda é pouco compreendida, mas está associada a distúrbios ao nível dos processos de modelação e remodelação, ou seja a desequilíbrios no ciclo de remodelação óssea, verificando-se um aumento no rácio entre osso removido e osso repostado [11].

Existem factores de risco que propiciam o aparecimento desta doença. Um dos factores de risco mais relevantes é o sexo feminino, porque as mulheres têm um pico de massa óssea menor e têm uma esperança média de vida superior [14]. Esta incidência é maior após a menopausa, altura em que ocorre uma rápida perda de massa óssea, sobretudo ao nível trabecular, consequência da diminuição dos níveis de estrogénios, o que leva a um aumento da produção no microambiente ósseo de IL-6, que activa a osteoclastogénese, e a uma activação de monócitos e macrófagos que produzem outras citocinas, como a IL-1 e o TNF alfa. Tudo isso leva a uma diminuição da rigidez do osso, sendo tal compensado em parte, através da aposição de osso no perióstio, que é mais significativo no homem do que na mulher. Outro factor que leva a que o homem tenha menor prevalência de incidência de OP, deve-se ao facto do seu esqueleto ser globalmente maior, o que permite tolerar uma carga superior, o que diminui o risco de fractura [5]. Indivíduos de raça negra possuem um menor risco que os europeus e os asiáticos, visto possuírem uma maior massa óssea [14]. Como já foi referido, a genética possui um papel preponderante, sendo a presença de casos fracturas osteoporóticas na família um factor de alto risco [14]. Existem também comportamentos de risco, que podem aumentar a probabilidade de aparecimento de OP, entre os quais: estilo de vida sedentário, dieta com baixo teor de cálcio, tabagismo e ingestão excessiva de álcool [5,9-10].

Nos idosos, a diminuição da produção de factores de crescimento locais, como o IGF-1 e o TGF, compromete a actividade osteoblástica, com diminuição da formação óssea, o que se reflecte em osteopénia do osso cortical [5].

1.2.2. Osteoartrose

A osteoartrose (OA) é uma doença com uma grande incidência, que se estima afectar cerca de 10% da população mundial com mais de 60 anos [15,16]. É uma importante causa de problemas de sono, depressão e redução da qualidade de vida [16], e é a patologia articular mais comum. Embora não possua uma definição universalmente aceite, é caracterizada por uma perturbação na síntese e degradação da cartilagem articular em articulações sinoviais (diartroses) [17]. As articulações sinoviais são estruturas nas quais, as superfícies do osso são cobertas com uma fina camada de cartilagem, sendo o espaço articular ocupado por líquido sinovial e revestido por um tecido conjuntivo laxo designado por membrana sinovial e por um tecido conjuntivo fibroso designado por cápsula articular (figura 7) [17].

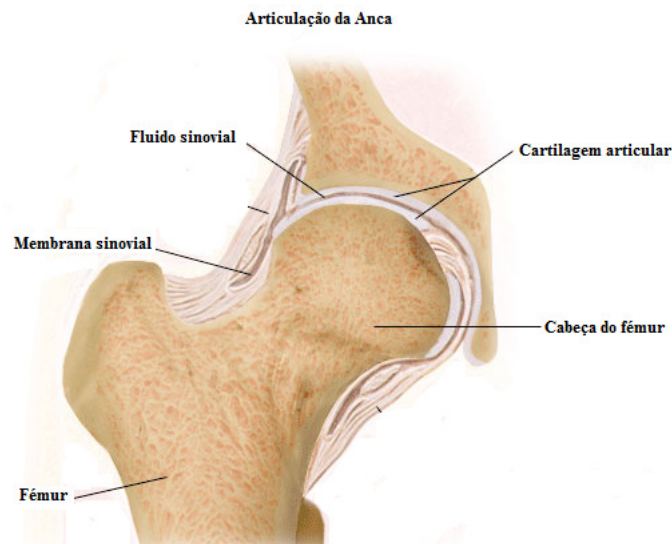


Figura 7 – Esquematização de uma articulação sinovial: a articulação da anca (adaptado) [18].

A cartilagem absorve as cargas resultantes do exercício físico e, com o líquido sinovial, proporciona uma superfície regular e com baixo nível de fricção para o movimento [17] (figura 7). A cartilagem é constituída por um conjunto essencial de componentes: condrócitos, as células principais da cartilagem e produtoras da matriz extracelular, que é composto por ácido hialurónico, proteoglicanos, vários tipos de colagénio, sendo o mais importante o tipo II, e água [19]. Na OA, ocorre um aumento da produção dos factores catabólicos da cartilagem, como a IL1 e diversas metaloproteinasas e, simultaneamente, ocorre uma alteração da qualidade dos colagénios e proteoglicanos produzidos, o que condiciona as propriedades químicas e físicas da cartilagem e, conseqüentemente, a sua biomecânica. Estes fenómenos conduzem ao compromisso estrutural progressivo da cartilagem, condicionando o aparecimento de sintomas como a dor, tumefacção e diminuição da mobilidade. Mais tarde, ocorre o aparecimento de neoformações ósseas, osteófitos, e

numa fase mais evoluída da doença, até podem soltar-se fragmentos de osso ou de cartilagem para o interior da articulação, limitando ainda mais a mobilidade e agravando os sintomas (figura 8) [17,20].

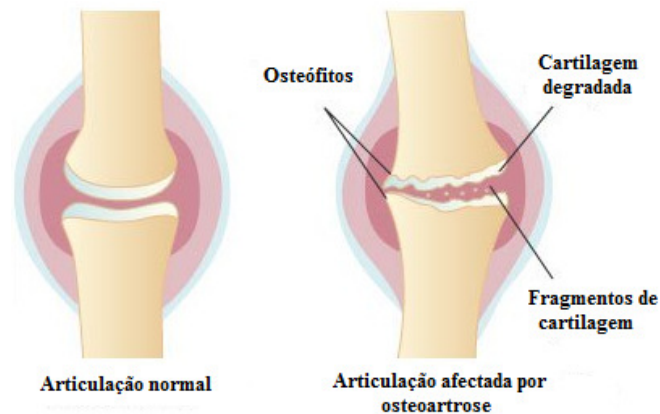


Figura 8 – Efeito da osteoartrose numa articulação (adaptado) [21]

Em articulações com OA, a inflamação pode estar presente, contudo, esta é usualmente ligeira e secundária às alterações da cartilagem [15]. Embora homens e mulheres sejam igualmente afectados, nas mulheres, os sintomas surgem mais precocemente e aparentam ser mais graves [15].

O maior factor de risco para a OA é a idade. Outros factores incluem obesidade, susceptibilidade genética e uso excessivo da articulação [15,17]. A forte associação existente entre a idade e a OA pode ser explicada por alterações na composição da matriz da cartilagem, e por diminuição da função dos condrócitos e perda de resposta a estímulos. Estas alterações levam a uma interferência na remodelação do tecido, e perda de cartilagem [15].

A utilização das articulações fornece estimulação fisiológica que ajuda na actividade sintetizadora dos condrócitos. Uma diminuição prolongada da mobilidade, pode levar a uma alteração na composição da matriz e consequente perda de função do tecido [15].

A manutenção de um peso corporal apropriado pode ser o factor mais importante na prevenção da OA, tendo-se encontrado uma relação inversa entre a perda de peso e o risco de desenvolvimento de OA [15]. O papel do exercício no desenvolvimento da OA, não é claro, havendo resultados de estudos que mostram maior prevalência de OA em atletas e com sintomas mais graves do que nos indivíduos de controlo. Contudo, é evidente que uma história de lesões, principalmente no joelho ou na anca, é um factor de risco no desenvolvimento de OA [15]. No caso específico da OA da anca, verifica-se um desgaste na cartilagem existente entre a cabeça do fémur e o acetábulo, o que resulta em dor e instabilidade.

1.2.3. Relação entre a osteoartrose e a osteoporose

Embora exista alguma controvérsia, alguns estudos sugerem que existe uma relação inversa entre a existência de OA e a probabilidade de ocorrência de OP. Esta relação é de extrema importância para este trabalho, pelo que será aprofundada de seguida.

A OP e a OA são as duas doenças músculo-esqueléticas mais comuns encontradas na população idosa, estando associadas à diminuição da capacidade funcional e da qualidade de vida, e também condicionam um aumento de co-morbilidade e mortalidade [22-24].

Diversos estudos e observações clínicas mostram que estas duas doenças coexistem numa probabilidade inferior ao que seria esperado [5,25], o que sugere que a OA pode actuar como um protector, ou pelo menos como um retardador da OP [24]. Embora ainda não se conheça a razão biológica explicativa deste fenómeno, pensa-se que tal poderá ser devido a influências mecânicas associadas à OA, ou a alterações bioquímicas que causam alterações locais nos factores e citocinas que modelam a remodelação óssea [22]. No caso específico da OA da anca (coxartrose, cOA) verifica-se que a fractura da anca intracapsular é rara em doentes com OA [26], e que as cabeças de fémur destes doentes possuem uma maior densidade mineral óssea (BMD), rigidez e capacidade para absorver energia, comparativamente a cabeças de fémur “normais” e com OP [23,27]. Um efeito do aumento da rigidez da cabeça do fémur repercute-se numa menor área de contacto entre a cabeça e o acetábulo e consequentemente numa maior tensão no ponto de contacto entre os dois tecidos, o que contribui para o maior desgaste na cartilagem das cabeças de fémur em doentes com cOA [24]. Estudos em ancas de mulheres caucasianas mostraram que pessoas que não sofrem de fractura do colo do fémur têm mais probabilidade de desenvolver cOA no futuro [27]. Simultaneamente, outro estudo mostrou que não existe desgaste ao nível da cartilagem que reveste as cabeças de fémur dos doentes que sofreram fracturas ao nível do colo do fémur [28].

Embora ambas as doenças estejam relacionadas com a idade, a OA é considerada uma doença da cartilagem, agravada por factores mecânicos, com alterações ósseas secundárias tais como osteófitos marginais e esclerose subcondral, enquanto a OP é caracterizada por uma redução na quantidade de massa óssea e da sua qualidade, levando à diminuição da resistência mecânica do osso e consequente aumento da sua susceptibilidade para a fractura, sendo tal bastante evidente no caso do colo do fémur [24]. Uma outra hipótese, aponta no sentido de que as alterações primárias da OA ocorrem ao nível do osso subcondral, e que o aumento na rigidez verificado se deve às “reparações” de microfracturas que se formam, o que leva posteriormente a uma sobrecarga da cartilagem [29].

A sobrecarga mecânica contribui para a progressão da OA [24], bem como o espessamento e o reforço do osso subcondral ou o aparecimento de cartilagem calcificada [30]. Tal sugere que o início e progressão da OA, envolve a quebra do equilíbrio mecânico normal existente entre osso e cartilagem, embora ainda não se saiba ao certo em qual destes tecidos se dá o desencadear da doença, ou até se tal ocorre em ambos simultaneamente [24]. Esta dúvida existente acerca do tecido principal na patogénese da OA é justificado pelo facto de a degradação da cartilagem ser habitualmente detectada após os sintomas aparecerem, ou seja, já num estado bastante avançado, quando já é demasiado tarde para determinar os acontecimentos anteriores [23].

O conhecimento da microestrutura e das propriedades mecânicas do osso são determinantes para estabelecer o risco de fractura osteoporótica, pois são essenciais para avaliar a resistência mecânica e rigidez do osso [24]. Jordan et al., 2003, utilizaram métodos densiométricos e histológicos em amostras de osso provenientes de colo do fémur, e verificaram que o fortalecimento do osso que ocorre em cOA é conferido principalmente através de efeitos estruturais no osso trabecular, nomeadamente por aumento da área trabecular, da espessura das trabéculas e conectividade, visto que a cortical apresentava uma espessura diminuída. Por outro lado, existem evidências de que é

precisamente o adelgaçamento que se verifica na camada cortical, a principal consequência adversa do envelhecimento ósseo e que leva ao crescente risco de fractura da anca, através da tendência do efeito de *buckling* [22].

Sun et al., 2008, utilizaram amostras de cabeças de fémur de OA e OP, e quantificaram um aumento de 130 % no módulo de Young e de 200 % na tensão de cedência nos casos de OA em relação aos casos de OP [24]. Anteriormente, outro estudo semelhante tinha referido um aumento nos parâmetros referidos respectivamente de 40% e 72 % [23]. Embora ambos os estudos mostrem um claro aumento dos parâmetros analisados nos casos de OA, verificou-se que o aumento foi significativamente maior num dos trabalhos, sendo tal devido ao facto das amostras de osso terem sido retiradas da região compressiva principal da cabeça do fémur e testadas ao longo da direcção compressiva principal. Tal vem de encontro à lei de Wolff, segundo a qual a disposição do osso trabecular na cabeça do fémur depende da direcção da força suportada, e como tal, as propriedades mecânicas das amostras estão dependentes da localização na cabeça do fémur, bem como da direcção ensaiada [24]. O mesmo foi verificado por Li e Aspden, 1997, que observaram claras variações de propriedades mecânicas em amostras de osso trabecular retiradas de diferentes localizações da cabeça de fémur humana, tendo encontrado os maiores valores de rigidez, tensão de cedência e energia absorvida em amostras retiradas da zona superior da cabeça, que é a que sofre maior carga *in vivo*. De salientar ainda que, no mesmo estudo, os valores mais baixos de rigidez foram encontrados no colo do fémur, para o caso de amostras de osso OP, e na região inferior da cabeça do fémur, no caso de amostras de osso OA [23].

Outra componente estudada por Sun et al., 2008, diz respeito aos factores que mais podiam influenciar as diferenças nas propriedades mecânicas existentes entre amostras provenientes de OP e OA, tendo-se concluindo que o diâmetro da cabeça do fémur tem forte influência nestas propriedades, mais do que o peso e altura corporal, o que reflecte as observações de os doentes com OA possuírem cabeças de fémur significativamente maiores do que doentes OP [24].

1.3 Estrutura e comportamento mecânico do osso trabecular

A compreensão do comportamento mecânico do osso trabecular possui uma extrema relevância para inúmeras aplicações biomédicas, nomeadamente na concepção de próteses ósseas com propriedades que se assemelhem o mais possível ao osso que pretendem substituir, isto de modo a evitar problemas de dissonância entre o material que constitui a prótese e o osso circundante. [31]. O estudo do comportamento mecânico também é importante na percepção de como a diminuição de massa óssea, que se verifica por exemplo na osteoporose, se relaciona com a diminuição da resistência do osso quando sujeito a tensões aplicadas, e consequentemente com o risco de fractura [1,31].

O osso trabecular, tal como muitos outros materiais existentes na natureza, possui uma estrutura celular [32]. A forma e densidade das células que a constituem, dependem do valor das tensões aplicadas. Se as cargas forem iguais nas três direcções principais, o osso vai tender a formar células aproximadamente equiaxiais. Contudo, se a carga numa direcção for maior que as restantes, as paredes das células vão tender a alinhar e a espessar na direcção que melhor suporta a carga

[1,31]. Assim, a densidade e a orientação da estrutura trabecular, vão depender da intensidade e da orientação das tensões aplicadas. Embora este mecanismo não seja ainda completamente compreendido, pensa-se que as propriedades piezoelectricas do osso, isto é, a capacidade de gerar potenciais eléctricos quando solicitado mecanicamente, podem ser responsáveis por este crescimento induzido por tensões [1,31]. Esta dependência do osso trabecular dos valores das cargas que experimenta, é patente quando se comparam mapas de distribuição de tensões com representações da estrutura celular, e onde se verifica que estruturas abertas de baixa densidade se desenvolvem onde a tensão é baixa, enquanto estruturas densas, quase fechadas, são encontradas em regiões de maior tensão [31].

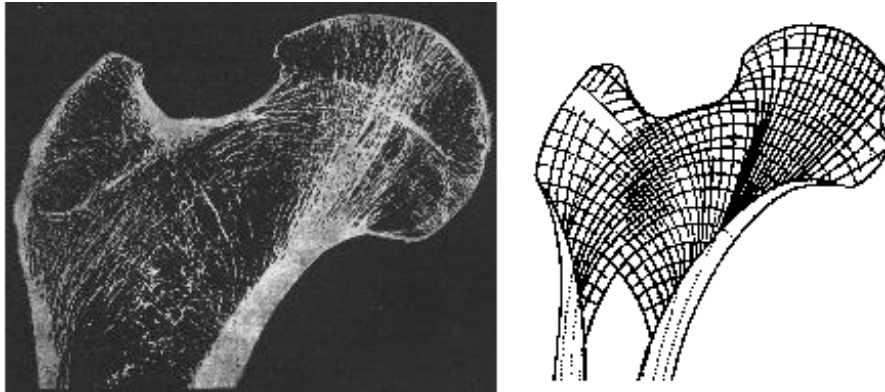


Figura 9. Comparação entre um mapa de distribuição de tensões (à direita), e uma representação da estrutura celular (à esquerda) para a zona superior do fémur (adaptado) [31].

A estrutura do osso trabecular é constituída por uma rede interconectada de hastes e placas. Uma rede de hastes origina células abertas de baixa densidade, enquanto uma rede de placas origina células de alta densidade, virtualmente fechadas. Na prática, a densidade relativa do osso trabecular varia entre 0.05 e 0.7, em que por densidade relativa se entende a densidade do material celular (ρ^*) dividida pela densidade do sólido que a constitui (ρ_s) [31, 32].

$$\text{densidade relativa} = \frac{\rho^*}{\rho_s} \quad (1)$$

Ao nível da modelação da estrutura e das propriedades do osso trabecular, vários modelos de estrutura têm sido sugeridos nas últimas décadas. Um modelo bastante conhecido, o modelo de Gibson e Ashby, tenta clarificar as origens destas propriedades, propondo duas classes de modelos consoante a densidade. Assim, a baixas densidades a estrutura é descrita por células abertas, como uma rede de hastes, mas à medida que a densidade aumenta, a estrutura torna-se constituída por placas perfuradas. [31,32].

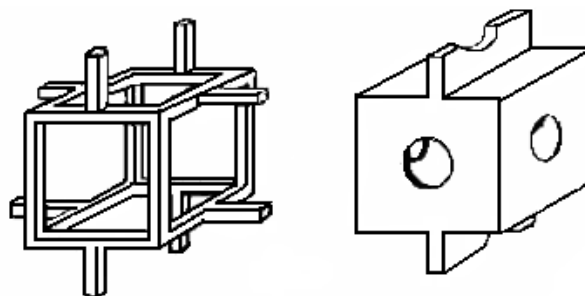


Figura 10. Modelos de Gibson e Ashby para (a) baixa e (b) alta densidade (adaptado) [31].

A aplicação deste modelo tridimensional, que pode ser utilizado para estimar as propriedades do osso trabecular, nomeadamente ao nível da sua deformação e colapso, será aprofundada de seguida.

1.3.1. Propriedades mecânicas do osso trabecular

O comportamento mecânico do osso trabecular é típico de um material celular. A curva tensão-extensão (σ - ε) de compressão, apresenta deste modo os 3 regimes distintos característicos dos sólidos celulares: deformação elástica, deformação plástica e densificação [31]

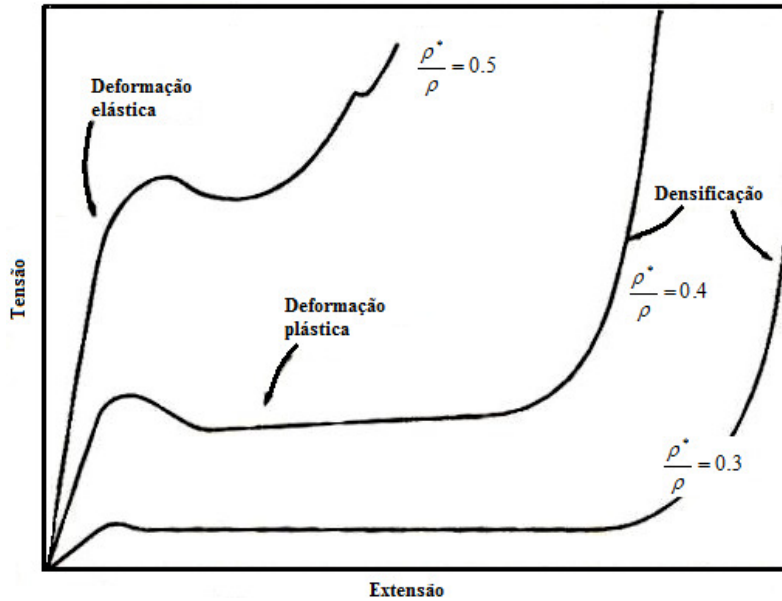


Figura 11. Curvas tensão-extensão característica da compressão de osso trabecular, para diversas densidades relativas (adaptado) [31].

i) Deformação elástica

Na região elástica de deformação, a estrutura retrata o comportamento de uma mola: a deformação aumenta linearmente com o aumento da força, e depois de a carga cessar, a estrutura regressa à sua forma original [1,31]. A elasticidade é assim a capacidade de um material regressar à sua forma original quando uma tensão aplicada é removida. O declive da região elástica determina a rigidez da estrutura. No caso particular de uma curva σ - ε , o declive é chamado módulo de elasticidade ou módulo de Young (E). O módulo de Young é independente do tamanho do espécime testado, e conseqüentemente é uma medida da rigidez intrínseca do material. A rigidez será, deste modo, a capacidade do material resistir à deformação, quando uma força lhe é aplicada. Contudo, a definição de rigidez do osso trabecular é mais difícil. O osso trabecular consiste em trabéculas individuais, organizadas numa estrutura entrelaçada, e medula constituída por células, gordura e vasos sanguíneos. Enquanto as trabéculas individualmente são relativamente uniformes, a estrutura em que estas se organizam pode exibir um vasto grau de variabilidade em termos de porosidade, orientação estrutural e conectividade. Deste modo, o osso trabecular apresenta uma rigidez material, intrínseca, que é a rigidez de uma trabécula individual, e uma rigidez estrutural, extrínseca, que é a

rigidez da estrutura em que as trabéculas se encontram organizadas. A maioria dos estudos biomecânicos de osso trabecular concentra-se nas propriedades estruturais, porque as propriedades materiais são de difícil definição. Propriedades estruturais, podem por seu lado, variar de forma apreciável para diferentes regiões anatómicas e estão dependentes da densidade, distribuição e orientação das trabéculas [1]. A análise do comportamento σ - ε ou força-deslocamento do osso complica-se ainda mais pelo facto do osso não se comportar como uma mola perfeita. Na verdade, a maioria dos tecidos biológicos apresentam um comportamento não-linear. Este comportamento é denominado viscoelástico e é resultante das perdas de energia devido ao atrito na estrutura (viscoelasticidade intrínseca) ou ao movimento do fluido durante a deformação. O osso exibe apenas um ligeiro grau de viscoelasticidade, e é razoável aceitar a aproximação de o tratar como um material elástico linear [1,31], e conseqüentemente admitir que na zona linear obedece à lei de Hooke, que indica que a tensão (σ) e a extensão (ε) estão relacionadas linearmente, o que matematicamente se expressa por:

$$\sigma = E\varepsilon \quad (2)$$

As pequenas extensões que ocorrem durante esta região, são essencialmente derivadas da flexão das paredes celulares, embora também possa existir tensões axiais que resultam em deformações da membrana. Contudo a deformação causada por estas forças é pequena quando comparada com a provocada pela flexão [31].

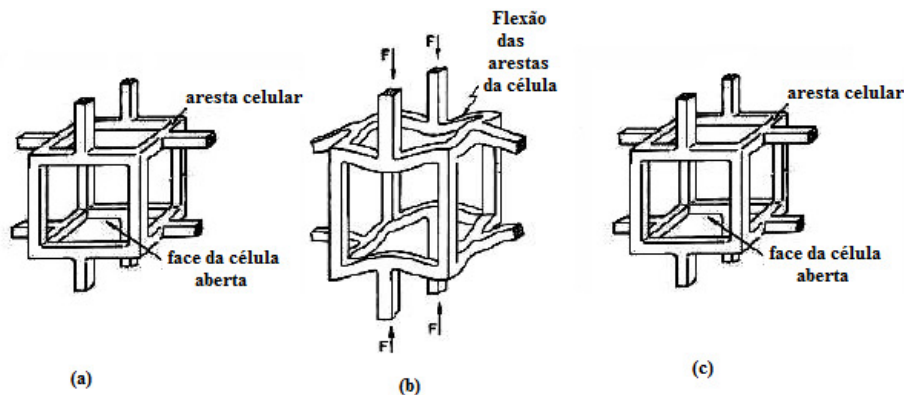


Figura 12. (a) Estrutura celular aberta antes da compressão (b) Flexão das arestas de uma célula aberta durante a deformação linear (c) estrutura celular volta ao estado inicial após remoção da força aplicada (adaptado) [32].

Pela aplicação do modelo de Gibson e Ashby, é possível estimar o módulo de Young da estrutura trabecular (E^*), considerando uma carga transversal F , que provoque uma certa deformação por flexão das arestas, através da equação (3). Esta equação, fornece assim a dependência do módulo de Young da estrutura, do módulo de Young do material celular, isto é, o osso trabecular que constitui as paredes das células (E_s), e da densidade relativa, e combina todas as constantes de proporcionalidade relacionadas com a geometria da célula numa única constante, C_1 [31,32].

$$\frac{E^*}{E_s} = C_1 \left(\frac{\rho^*}{\rho_s} \right)^2 \quad (3)$$

Ajustando a equação 3, a dados experimentais, determinou-se que C_1 é próximo de 1, existindo outros estudos de carácter estrutural e de análise de elementos finitos que apontam para um valor de $C_1=0,98$ e $C_1=0,8$. Em geral, usa-se $E_s=12\text{GPa}$ e $\rho_s=2000\text{kg/m}^3$. Contudo todas as abordagens apontam para uma dependência quadrática do módulo em relação à densidade relativa. Esta dependência é visível na figura 13, onde se relaciona o módulo de Young relativo (E^*/E_s), com a densidade relativa ρ/ρ_s e se verifica que os dados posicionam-se grosseiramente numa linha com declive 2, mas com desvios substanciais. Estes desvios estão relacionados com a variação da estrutura trabecular, que altera as propriedades mecânicas do osso trabecular, mesmo à mesma densidade. Isto faz com o parâmetro C_1 , não seja exactamente uma constante no caso de osso trabecular, como acontece no caso de outros sólidos celulares, podendo existir um certo grau de variância no seu valor, do mesmo modo que existe uma variância na arquitectura de osso trabecular de um certo local para outro [31,32].

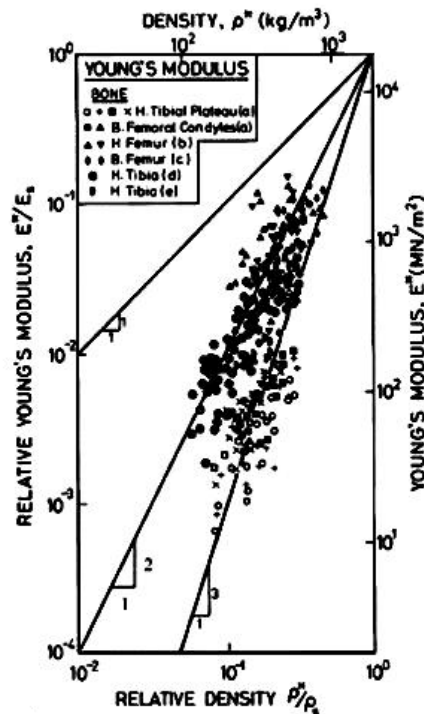


Figura 13. Módulo de Young de osso trabecular em função da densidade relativa. Valores utilizados para a normalização: $E_s=12\text{GPa}$ e $\rho_s=2000\text{kg/m}^3$ (adaptado) [32].

ii) Deformação plástica

O regime elástico termina quando as células que constituem a estrutura trabecular começam a colapsar [1]. A tensão a que tal ocorre é usualmente denominada como tensão de cedência (σ_{ced}), e marca a passagem para a zona de deformação plástica. Aqui as deformações sofridas pela estrutura deixam de ser recuperáveis, isto é, mesmo que a força de compressão seja retirada, a estrutura já não poderá voltar ao estado inicial, visto já possuir danos permanentes na estrutura trabecular, que se vão multiplicando com a progressão da compressão. A duração do

regime plástico, isto é, a extensão que o material pode sofrer durante esta fase, é tanto maior quanto for a sua ductilidade [33].

Existem vários modelos para a forma como o colapso celular se dá, entre os quais a encurvatura elástica, a deformação plástica e a fractura frágil (figura 14) [31].

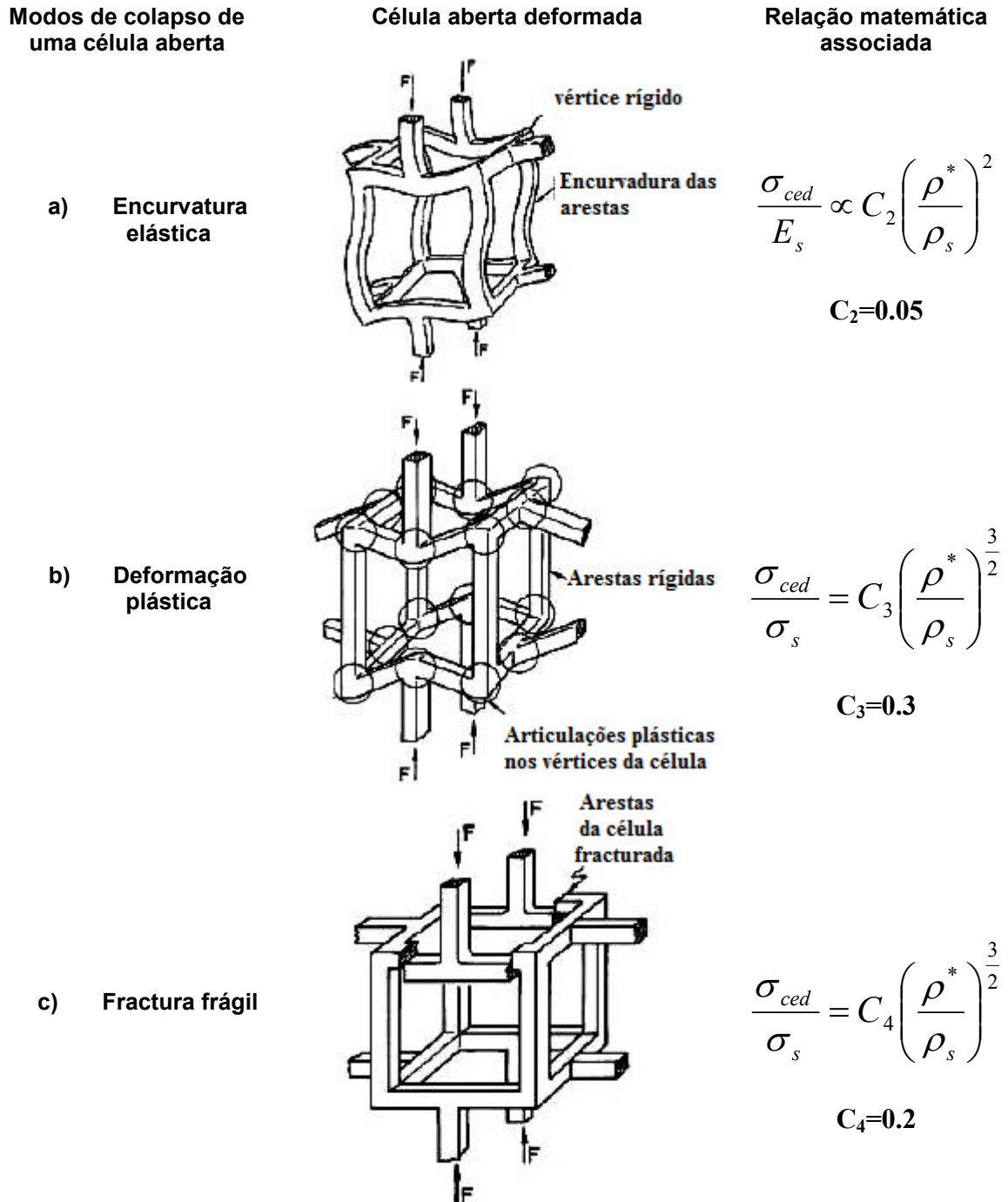


Figura 14. Modelos tridimensionais dos modos de colapso celular de uma célula aberta. Modos de colapso: (a) encurvatura elástica; (b) deformação plástica; (c) fractura frágil. σ_s corresponde à tensão de cedência do material que constitui as paredes celulares (adaptado) [32].

A figura 14 mostra precisamente estes modos de colapso, bem como a relação que existe entre a tensão de cedência da estrutura e a densidade relativa. Na figura 15, pode verificar-se a distribuição de pontos experimentais de tensão de cedência de várias amostras de osso trabecular com a densidade relativa.

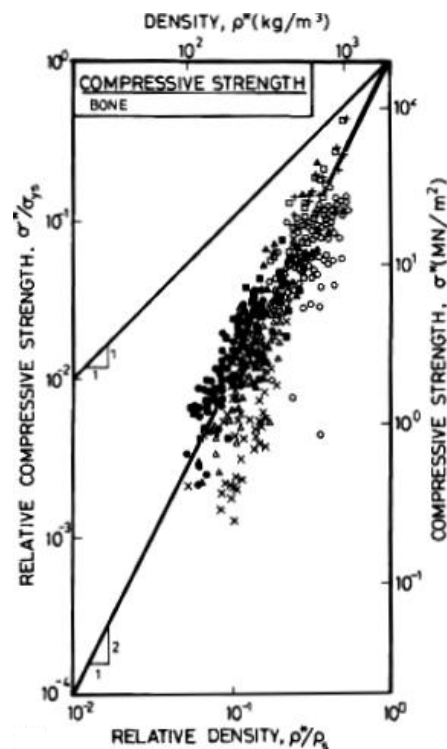


Figura 15. Tensão de cedência de osso trabecular em função da densidade relativa. Valores utilizados para a normalização: $\sigma_{ys} = 136 \text{ MPa}$ e $\rho_s = 2000 \text{ kg/m}^3$ (adaptado) [32].

Verifica-se pela figura 15, que a variação da tensão de cedência em função da densidade relativa é relativamente bem descrita por uma recta com declive 2, o que sugere que o mecanismo de colapso é a encurvatura elástica, mais do que a deformação plástica que depende da densidade segundo um expoente de 3/2 [31,32].

iii) Densificação

Após grande deformação, ocorre por fim a densificação, onde as paredes das células entram em contacto entre si, verificando-se a compactação da estrutura trabecular. Neste ponto, a curva $\sigma-\epsilon$ cresce de forma abrupta, visto ser necessário, um maior aumento da tensão de compressão aplicada para causar uma certa deformação na estrutura [31].

1.4. Ensaio de Compressão

Estudos utilizando testes mecânicos em osso, têm sido determinantes na determinação das propriedades mecânicas do osso sobre diferentes condições de cargas. O tecido ósseo é parte de uma estrutura biológica e as suas propriedades mecânicas apenas podem ser completamente avaliadas compreendendo como a estrutura funciona como um todo [1].

Os testes de compressão em amostras de osso, são uma das técnicas mais utilizadas para a caracterização do comportamento mecânico. Embora estes testes tendam a ser menos precisos que os testes de tracção, devido a efeitos de atrito e outros relacionados com o contacto entre a amostra e o dispositivo de compressão, possuem várias vantagens que justificam a sua utilização. Entre estas vantagens, encontram-se a possibilidade de utilizar provetes de dimensões mais reduzidas do que os utilizados nos testes de tracção e de a sua obtenção ser no geral mais fácil. Para além disso, existem regiões do esqueleto em que os testes de compressão simulam melhor os carregamentos existentes *in vivo* [1].

De um modo geral, podemos dizer que a compressão é um esforço axial, que tende a provocar um encurtamento do corpo submetido a este esforço. Este esforço axial representa a resultante das forças internas que se encontram distribuídas em toda a área A da secção transversal do provete. A força por unidade de área, ou a intensidade das forças distribuídas sobre uma dada secção, é designada por tensão nessa secção e é denotada pela letra grega σ . A tensão num elemento de área A sujeita a um esforço axial F, é então obtida através do quociente do valor de F pela área A [34]:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (4)$$

Do mesmo modo que o ensaio de tracção, o ensaio de compressão pode ser executado na máquina universal de ensaios mecânicos, com a adaptação de dois pratos lisos: um fixo e outro móvel (figura 16). É entre eles que o corpo de prova é apoiado e mantido firme durante a compressão.

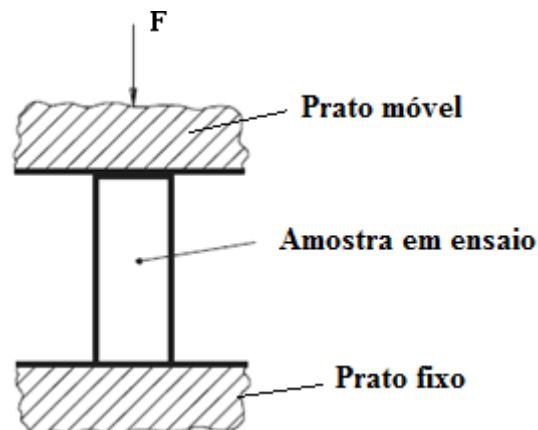


Figura 16. Esquema simplificado do mecanismo inerente a um ensaio de compressão (adaptado) [34].

Na maioria das medições de propriedades mecânicas, a força aplicada é medida por uma célula de carga e as alterações nas dimensões do provete são indicadas pela variação da distância entre os dois pratos, ou seja, pelo deslocamento do prato móvel associado ao travessão da máquina de ensaios [1]. Enquanto o objecto do teste está a ser carregado, uma curva força-deslocamento é registada por um computador acoplado à máquina, em que deslocamento é definido como a variação de comprimento Δl , relativo ao comprimento inicial, l_0 .

$$\Delta l = l - l_0 \quad (5)$$

Na realidade, o deslocamento medido deste modo, inclui a deformação dos espécimes e a deformação do sistema de teste, como no caso de existir uma interface instável entre os provetes e a máquina. As curvas força-deslocamento são particularmente úteis para medir a força e rigidez de estruturas integrais. Contudo, para comparar comportamento de diferentes materiais, é necessário normalizar a força e o deslocamento como tensão e extensão respectivamente e dividir pelas dimensões da amostra [34]. A tensão pode ser obtida a partir da força aplicada utilizando a equação (6). No caso particular de uma amostra cilíndrica, em que a secção transversal é circular, teremos:

$$\sigma = \frac{F}{\pi \left(\frac{d}{2}\right)^2} \quad (6)$$

em que d , representa o diâmetro da secção transversal. A extensão (ε) representa as alterações dimensionais da amostra em teste sobre a acção do esforço axial, e é adimensional, visto ser o quociente entre duas quantidades, ambas em unidades de comprimento: a variação de comprimento Δl , e o comprimento inicial, l_0 , ou seja:

$$\varepsilon = \frac{l - l_0}{l_0} \quad (7)$$

A extensão é assim definida como a alteração geométrica no material em resposta á aplicação de uma força (figura 17), e é também conhecida como deslocamento normalizado [1]. Pode ser medida directamente como comprimento por unidade de comprimento (e.g. mm/mm), ou pode ser reportada como percentagem, bastando para tal multiplicar a equação (7) por 100.

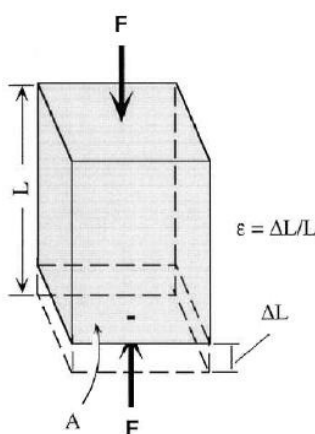


Figura 17. Corpo com comprimento inicial L , sujeito a um esforço axial F que provoca uma deformação ΔL (adaptado [1]).

Existe um número significativo de propriedades mecânicas que se podem determinar a partir de ensaios de compressão. As três principais propriedades sob as quais este trabalho se debruça

são a tensão de cedência (σ_{ced}), o módulo de elasticidade (E) e a energia absorvida até ao ponto da cedência (W_{ced}). A σ_{ced} , do ponto de vista mecânico é a tensão correspondente ao ponto de cedência, onde as alterações estruturais começam, e onde o comportamento do material passa de elástico para plástico, e deixa de obedecer à lei de Hooke. Numa curva $\sigma-\varepsilon$, este ponto corresponde ao ponto em que ocorre a primeira cedência (ver figura 18), ou quando a cedência não é visível, sugere-se que se utilize uma extensão permanente de 0.2%. O ponto de cedência segundo este critério, será a intersecção entre a curva de compressão, e a recta com declive igual ao módulo de elasticidade, mas deslocada 0.2% [1].

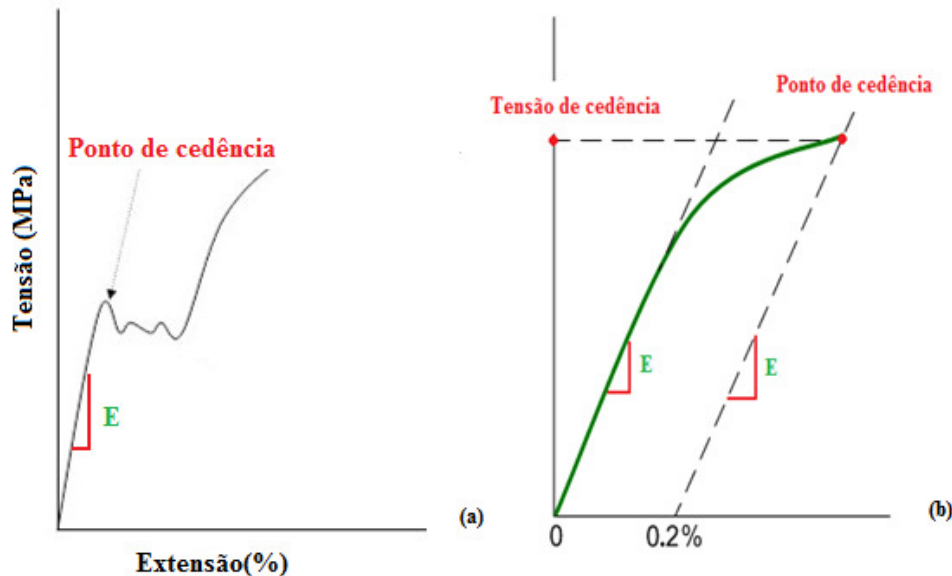


Figura 18. Ponto de cedência em curvas $\sigma-\varepsilon$. (a) Curva com ponto de cedência visível, (b) curva sem cedência visível, em que se utilizou uma deformação permanente de 0.2% (adaptado) [1].

O módulo de elasticidade, como já foi referido, corresponde ao rácio tensão/extensão na zona de comportamento elástico, onde a curva $\sigma-\varepsilon$ é caracterizada por uma linha recta:

$$E = \frac{\Delta\sigma}{\Delta\varepsilon} \quad (8)$$

É usual determinar-se através do cálculo do declive de uma recta tangente à curva. O módulo de elasticidade não é função do tamanho ou da forma do material testado, mas sim uma medida da capacidade de o material manter a forma sobre aplicação de forças externas. A energia absorvida corresponde à área abaixo da curva de compressão $\sigma-\varepsilon$ até um dado valor de extensão, e representa o trabalho transferido para o material durante a compressão, ou seja a energia mecânica consumida pelo material para se deformar até aquela quantidade [1]. No caso particular da energia absorvida até o ponto de cedência, corresponde à energia que a amostra absorve até ao ponto em que ocorre a sua cedência (figura 19).

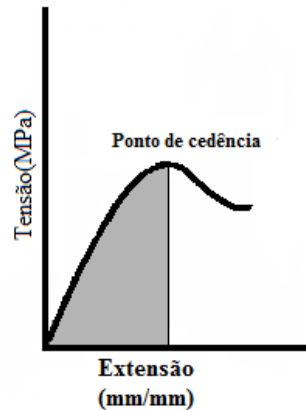


Figura 19. Área correspondente à energia absorvida até ao ponto de cedência.

1.4.1. Considerações práticas sobre os ensaios de compressão

1.4.1.1. Método de compressão

O método que é utilizado nos testes de compressão, isto é, a forma como a amostra é ensaiada, e como os dados relativos à forma como a compressão ocorre, nomeadamente a forma como a deformação da amostra é medida em função da força aplicada, é determinante para a obtenção de resultados que reflectem com rigor a realidade das propriedades da estrutura em estudo. Uma das técnicas mais antigas consiste em colocar o provete a testar entre as duas placas da máquina de testes e depois comprimir-lo. A medição da extensão é obtida pelo deslocamento das placas de compressão ou do travessão, e é usualmente registada directamente pela máquina. Embora esta técnica fosse a mais utilizada no passado, dois problemas reportados na literatura limitam a sua utilização enquanto método rigoroso de medição da extensão: a complacência da máquina e os efeitos de extremidade [35]. O problema da complacência da máquina está relacionado com as pequenas deformações dos espécimes de osso testados, que fazem com que deformações na célula de carga e nas colunas de teste possam resultar em sobrestimação das extensões, e consequentemente em subestimação da rigidez da estrutura testada. Os efeitos de extremidade podem ser de dois tipos: estruturais e de atrito, devido aos efeitos da interface provete-prato, e que actuando em conjunto ou separadamente, podem causar erros aleatórios e sistemáticos. Os efeitos de extremidade estruturais devem-se à flexão e ao deslizamento de trabéculas, junto da interface provete-prato, originados pela diminuição de suporte mútuo das trabéculas junto à superfície de corte do espécime, e que parecem ser a causa de subestimação do módulo de Young. Por outro lado, existem efeitos de atrito na interface provete-prato, que promovem com que as partes centrais do provete sejam menos deformadas do que o restante, pelo que maior força compressiva será necessária para deformar o espécime, tendo em conta a que seria espectável pela aplicação da lei de Hooke, resultando numa sobrestimação do módulo de Young. De modo a evitar estes problemas, vários métodos têm sido desenvolvidos de modo a tornar os resultados dos ensaios de compressão mais exactos. Entre estes métodos encontra-se a utilização de um extensómetro aplicado ao provete, ou de um vídeo-extensómetro, de modo a medir a sua deformação real e evitar o problema da complacência da máquina. Outro modo de evitar os problemas de extremidade, consiste na técnica

end-cap, em que se coloca nas extremidades dos espécimes uma camada de polimetilmetacrilado [1,35].

De um modo resumido, podemos afirmar que a aplicação de um carga ΔF no intervalo Δt provoca a deformação do provete, Δl , e a deformação da máquina de ensaios $\Delta F/K$, em que K é a constante de rigidez da máquina. O inverso desta constante, é a complacência da máquina. Deste modo, no intervalo de aplicação da carga Δt , tem-se que:

$$v\Delta t = \frac{\Delta F}{k} + \Delta l \quad (9)$$

Em que v é a velocidade do travessão.

1.4.1.2. Geometria e dimensão dos espécimes

Um factor chave que é necessário ter em consideração quando se preparam amostras para testes mecânicos diz respeito à geometria e dimensões a utilizar. Tal é ainda mais importante quando se consideram testes de compressão, que são bastante susceptíveis a factores experimentais [1]. As geometrias das amostras utilizadas em ensaios de compressão são cubos e cilindros [1,31]. As dimensões usualmente utilizadas no caso dos cubos encontram-se entre os 6 e os 8 mm de comprimento da aresta, embora estejam reportados na literatura utilização de provetes com arestas com 4,5 mm, e até 10 mm. No caso dos cilindros, é usual serem utilizados com diâmetros de base entre os 6 e os 8 mm e com rácio altura/diâmetro (h/d) entre 1 e 2, existindo contudo registos de compressão de provetes com rácio h/d de $\frac{1}{4}$, com diâmetros da base a variar entre os 5 e 20 mm e com alturas que atingem os 2.75 e os 12 mm [1]. Quando se compara a utilização de cubo ou de cilindros em ensaios de compressão, encontra-se uma certa concordância em favor da geometria cilíndrica, visto encontrarem-se neste várias vantagens, nomeadamente o facto de a sua obtenção com formas exactas ser mais fácil, e o facto de possuírem um rácio superfície/volume inferior aos dos cubos com dimensões equivalentes [1]. Keaveny et al, 1993, efectuaram uma análise teórica do efeito do atrito entre provetes de osso e o prato de compressão, e o dos factores associados às superfícies de corte, na determinação experimental do módulo de Young. Verificaram uma considerável subestimação dos valores de E para certas geometrias e que os espécimes com rácio 2:1 eram menos sensíveis aos efeitos que provocavam erros do módulo [36]. Também Linde et al, 1992, referem que os factores estruturais associados à compressão diminuem com o aumento das dimensões do provete e do rácio h/d , sugerindo que uma geometria cilíndrica, com um rácio h/d igual a 2 é a mais exacta na estimação do módulo de elasticidade [37]. O processo de obtenção de amostras cilíndricas é muito mais simples do que o de obtenção de amostras cúbicas, pelo que será este o procedimento adoptado neste trabalho.

1.5. Microscopia electrónica de varrimento (SEM)

O microscópio electrónico de varrimento (scanning electron microscope - SEM) consiste num tipo de microscópio electrónico capaz de produzir imagens da superfície de uma amostra com resolução muito superior à obtida recorrendo à microscopia óptica (MO), em consequência da utilização de um feixe de electrões de alta energia ao invés de luz visível. Assim, a imagem forma-se por interacção do feixe de electrões com a superfície da amostra, produzindo deste modo sinais que contêm informação sobre a sua topografia e outras propriedades, tal como a condutividade eléctrica. O feixe de electrões utilizado é proveniente do cátodo (usualmente um filamento de tungsténio), e acelerado por uma voltagem de 1-50 KV em direcção ao ânodo [38]. A interacção entre os electrões e a amostra, produz vários tipos de sinal, entre eles, electrões secundários, electrões retrodifundidos, electrões Auger e raios-X característicos. Estes diferentes sinais são usados de forma a determinar muitas das características da amostra, tais como microestrutura, topografia da superfície, cristalografia e composição. Os sinais mais importantes para a formação de imagens em SEM são fornecidos pelos electrões secundários (electrões de baixa energia, resultantes da interacção inelástica dos electrões primários com electrões fracamente ligados), e pelos electrões retrodifundidos (electrões emergentes das camadas profundas do material, de energia semelhante ao feixe incidente, resultantes de colisões elásticas), porque são os que interagem na zona superficial da amostra fornecendo a topografia da superfície. Como a emissão de electrões secundários está confinada a uma pequena área perto da área perto da zona de impacto do feixe de electrões, estes permitem uma maior resolução da imagem que se pretende obter. Através da análise dos raios-X característicos emitidos, obtêm-se informação acerca da composição química da amostra. A aparência tridimensional que caracteriza as imagens obtidas através desta microscopia, e a que a tornam tão usada actualmente é dada pela grande profundidade de campo do microscópio [39].

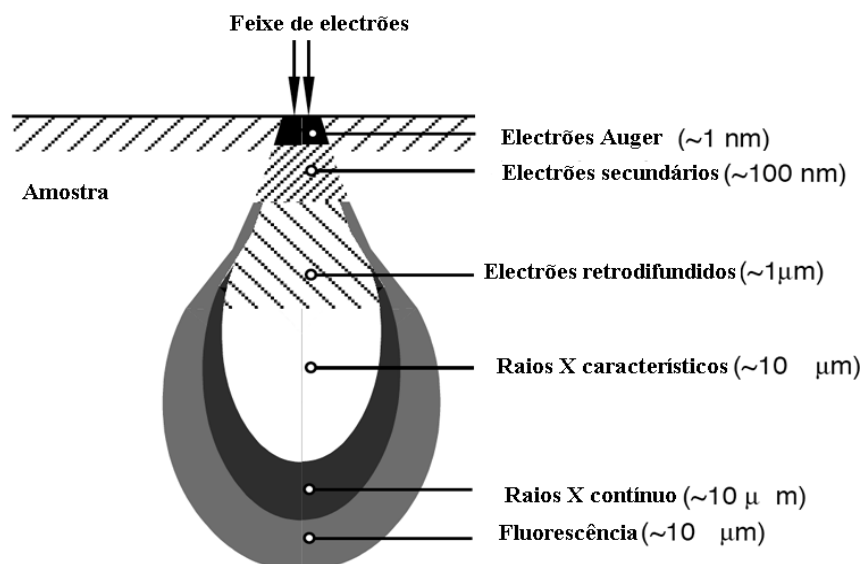


Figura 20. Tipos de radiação resultantes da interacção do feixe de electrões com a amostra e volume de emissão para as diferentes radiações (adaptado) [40].

1.5.1. Preparação de amostras para SEM

Para a aquisição de imagens de amostras em SEM é necessário que os espécimes sejam condutivos, para que os electrões do feixe possam varrer a sua superfície e interagir com o material. No caso em que a amostra não apresenta condutividade é necessário cobri-la com uma camada ultrafina de material electricamente condutivo, tal como ouro, platina, tungsténio ou grafite [38].

1.6. Objectivos

A presente dissertação tem como objectivo contribuir para a clarificação da forma como a osteoartrose e a osteoporose afectam as propriedades mecânicas e estruturais do osso trabecular, o que é de extrema importância do ponto de vista biológico e clínico. Assim, pretende-se verificar os efeitos destas patologias ao nível da resistência e rigidez da estrutura trabecular, e tentar relacionar as alterações destas propriedades com a variação de alguns parâmetros, tal como a densidade, a espessura cortical e o diâmetro da epífise femoral. Também é de extrema importância o desenvolvimento e a corroboração de modelos que permitam fornecer uma estimativa das propriedades mecânicas do osso trabecular, com base em factores que possam ser determinados de forma não invasiva. Através de imagens microscópicas, pretende-se compreender melhor a constituição estrutural do osso trabecular e como esta se relaciona com as propriedades mecânicas, bem como clarificar os seus mecanismos de fractura.

2. Materiais e métodos

Neste trabalho, estudaram-se as propriedades mecânicas e estruturais do osso trabecular humano. Foram usadas cabeças de fémur de doentes com OP e cOA que necessitaram de se submeter a uma artroplastia em que estas foram removidas. A partir destas cabeças de fémur, prepararam-se amostras com geometria cilíndrica e dimensões apropriadas à realização de ensaios de compressão. Também se extraíram amostras destinadas a observação microscópica em SEM e MO.

2.1. Preparação das amostras para ensaio de compressão

As epífises femorais humanas (cabeças de fémur) utilizadas neste trabalho, são oriundas de doentes osteoporóticos que sofreram fractura do colo do fémur, ou nos quais foi diagnosticado coxartrose, e que devido a tal, foram submetidos a uma artroplastia da anca, um procedimento cirúrgico no qual há substituição da cabeça do fémur e parte do acetábulo por uma prótese. A utilização deste material biológico foi aprovada pela comissão de ética do HSM. Todos os doentes deram o seu consentimento informado por escrito para este estudo, que foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsínquia ratificada em Edimburgo (2000).

Uma a duas horas após a remoção cirúrgica, as cabeças de fémur foram congeladas a -80°C , em arca congeladora existente nas instalações do Instituto de Medicina Molecular (IMM) da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, permanecendo nestas condições até à data dos ensaios, momento em que foram retiradas e mantidas à temperatura ambiente durante algumas horas, de modo a descongelar.

Posteriormente, efectuou-se a medição dos diâmetros das cabeças de fémur efectuando 3 medições em diferentes planos com um paquímetro digital, e calculou-se a média aritmética destes valores (figura 21).



Figura 21. Exemplo da medição do diâmetro de uma cabeça de fémur com um paquímetro digital, segundo um dos planos.

Para a obtenção dos cilindros de osso trabecular, do interior das cabeças de fémur, a ensaiar, utilizou-se uma perfuradora existente nas oficinas do Departamento de Engenharia Mecânica do IST (figura 22), acoplada a uma broca craniana de 19 mm. O corte foi efectuado na direcção de maior

tensão *in vivo* (figura 23). Juntamente com a obtenção do cilindro a ser utilizado nos testes mecânicos, obteve-se um outro provete, ligeiramente ao lado, de modo a obter uma amostra aproximadamente cilíndrica, e que foi posteriormente cortado em 5 fatias, para serem utilizadas posteriormente em outros protocolos (nomeadamente em SEM e MO).

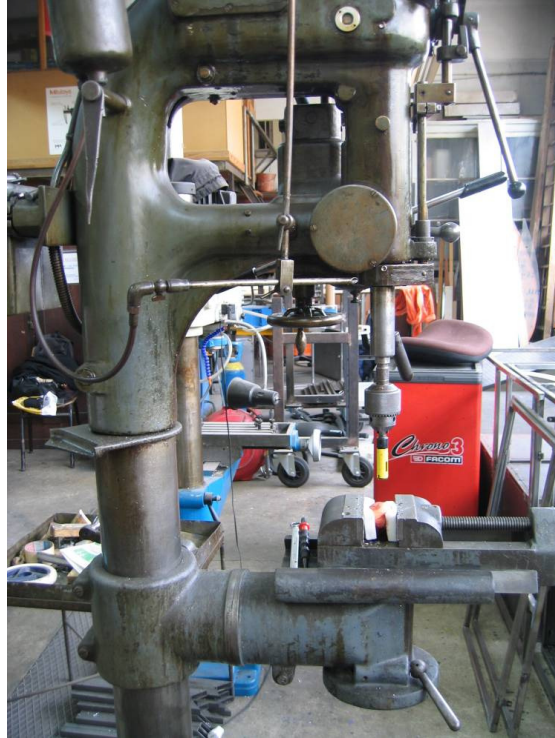


Figura 22. Perfuradora utilizada na extracção de cilindros das cabeças de fémur.

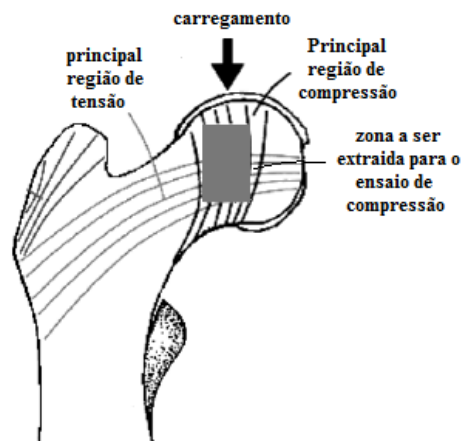


Figura 23. Esquema que mostra o local onde se extraíram os cilindros de osso trabecular (adaptado) [24].

Na figura 24, ilustra-se a obtenção das amostras cilíndricas a partir de uma cabeça de fémur. A altura das amostras cilíndricas é condicionada pelas dimensões da cabeça de fémur, mas tendencialmente obtêm um rácio h/d entre 1 e 2.

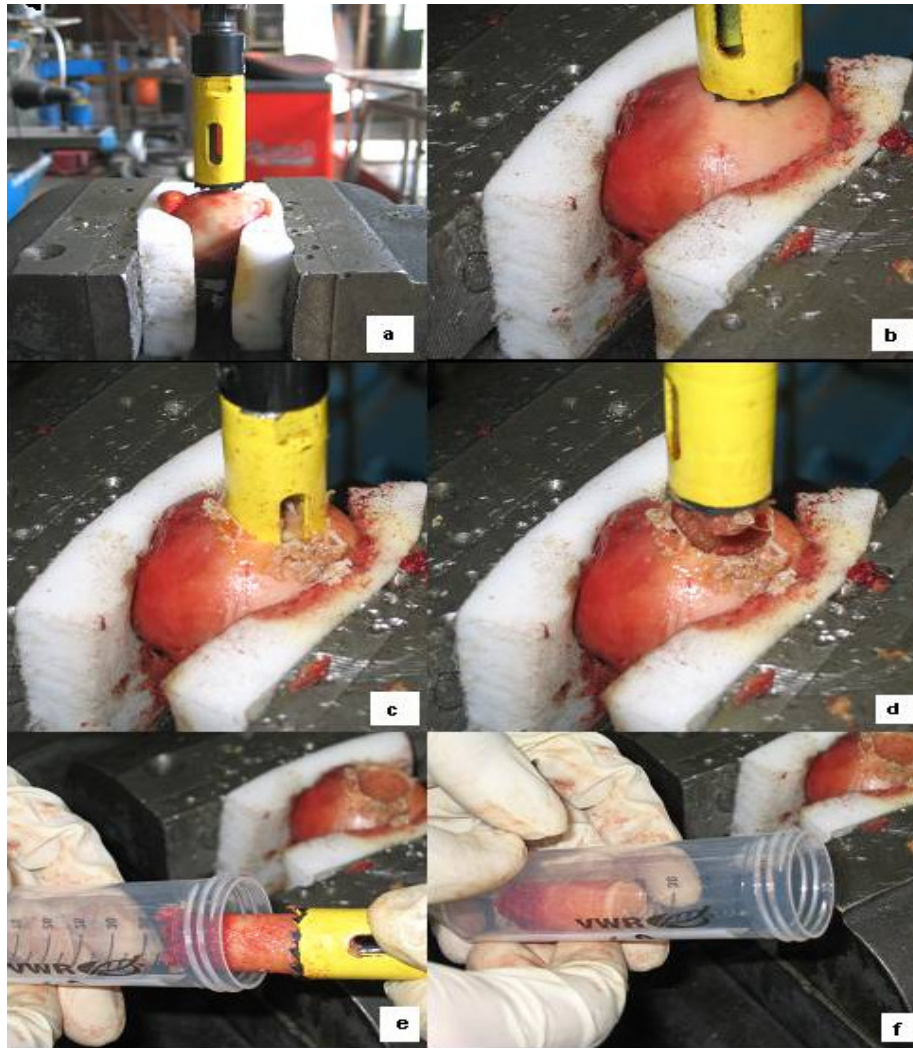


Figura 24. Sequência de imagens ilustrativas da extracção do espécime de osso trabecular a ensaiar

Nos cilindros a utilizar nos testes de compressão, mediu-se a espessura do osso cortical, efectuando-se 3 medições tal como no caso das medições dos diâmetros das cabeças de fémur e usando também para o efeito um paquímetro digital. Em seguida, cortaram-se os topos do cilindro com uma serra de modo a remover a camada cortical e para que as bases dos cilindros ficassem o mais paralelas possível. Para tornar esta operação mais fácil e precisa, colocou-se o cilindro de osso trabecular dentro de um tubo Falcon de 15 mL vazio, e usou-se a extremidade deste tubo como orientação para o corte, como se pode observar na figura 25.

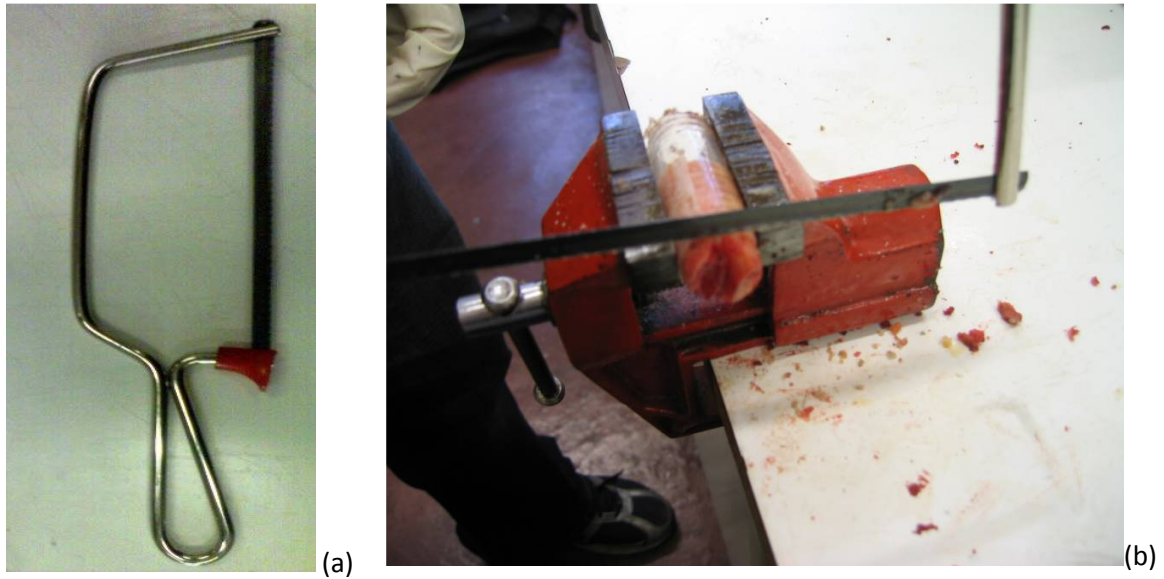


Figura 25. (a) Serra utilizada na extracção dos topos dos cilindros extraídos, (b) Corte de um dos topos de um cilindro de osso trabecular, utilizando um tubo Falcon de 15 mm como suporte.

De modo ainda a garantir que as bases ficavam o mais paralelas possível, poliram-se as amostras utilizando uma lixa de carboneto de silício e granulemetria de 1000 μm , numa polideira Struers DAP-V. A preocupação com o paralelismo das bases deve-se ao facto de que se as faces do provete de osso trabecular estiverem desalinhadas com o prato de compressão, podem ocorrer grandes concentrações de tensões, o que resulta numa subestimação do módulo de elasticidade e da tensão de cedência [1]. O polimento é feito com água corrente para evitar o aquecimento do osso.

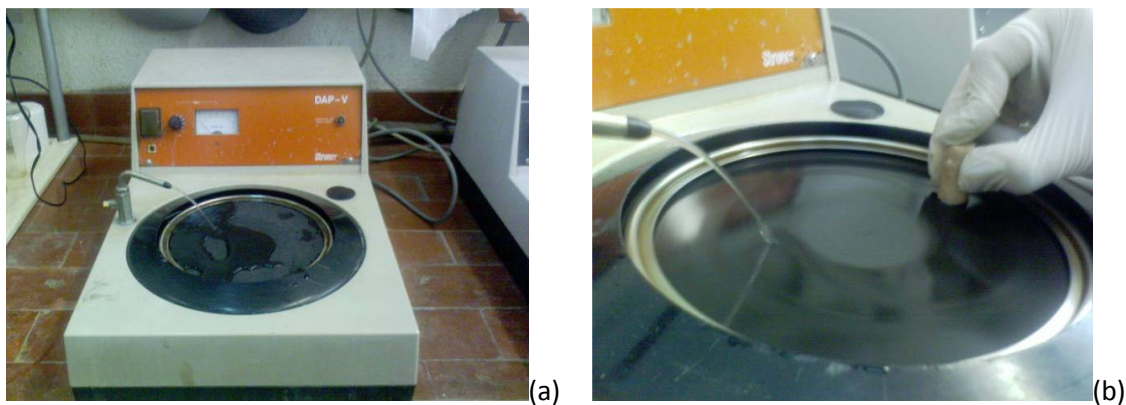


Figura 26 (a) Polideira Struers DAP-V utilizada no polimento das superfícies dos cilindros de osso trabecular, (b) Polimento da superfície de um cilindro de osso trabecular.

De modo a remover da estrutura trabecular restos de medula e de gordura existente e consequentemente reduzir o comportamento viscoelástico do osso, o cilindro de osso trabecular a ensaiar foi submetido a um tratamento de *de-fatting*. Para tal, colocaram-se as amostras em tubos Falcon com uma solução 1:1 de clorofórmio e metanol e foram mantidos numa agitadora durante 3 horas.



Figura 27. Agitadora utilizada durante o processo de de-fatting dos cilindros de osso trabecular.

Após o tratamento de de-fatting, a amostra foi mantida numa solução salina (PBS 1x: 137mM NaCl, 10mM fosfato, 2.7mM KCl, pH 7.4) durante a noite, até ao dia seguinte. Antes de as amostras serem ensaiadas, foi necessário determinar a sua densidade relativa, recorrendo para tal, ao princípio de Arquimedes. A técnica utilizada é semelhante à do picnómetro de água, que tem como base a medição do volume de líquido que se expande pela adição de um sólido. Em vez de um picnómetro, pois os que estavam disponíveis não possuíam dimensões adequadas às amostras, utilizou-se uma proveta graduada. O líquido usado foi PBS por ser mais apropriado para a conservação das amostras, cuja densidade se considerou 1 g/cm^3 . Assim sendo, a densidade da amostra foi determinada pela equação (10):

$$\rho = (m_1 - m_0) \rho_L \frac{1}{(m_3 - m_0) - (m_2 - m_1)} \quad (10)$$

em que m_0 =massa da proveta vazia; m_1 = massa da proveta com cilindro de osso trabecular; m_2 =massa da proveta com cilindro de osso trabecular e cheia com líquido até à altura de referência; m_3 = massa da proveta cheia com líquido até à altura de referência; ρ_L = densidade do líquido (PBS). As massas foram medidas numa balança semi-analítica.



Figura 28. Balança semi-analítica utilizada na medição das massas no cálculo das densidades.

2.2. Ensaio de compressão

Os ensaios de compressão realizados, tiveram lugar no Laboratório de ensaios mecânicos do Instituto de Ciência e Engenharia de Materiais e Superfícies (ICEMS), no IST. Utilizou-se uma máquina universal de ensaios mecânicos INSTRON, modelo 5566™ (Instron Corporation, Canton, USA) (figura29), com uma célula de carga de 10 kN e com uma velocidade de deslocamento de 0.1 mm/s. A precisão dos valores obtidos foi de $\pm 0.5\%$ do valor da célula de carga e a frequência de aquisição foi 50 kHz.

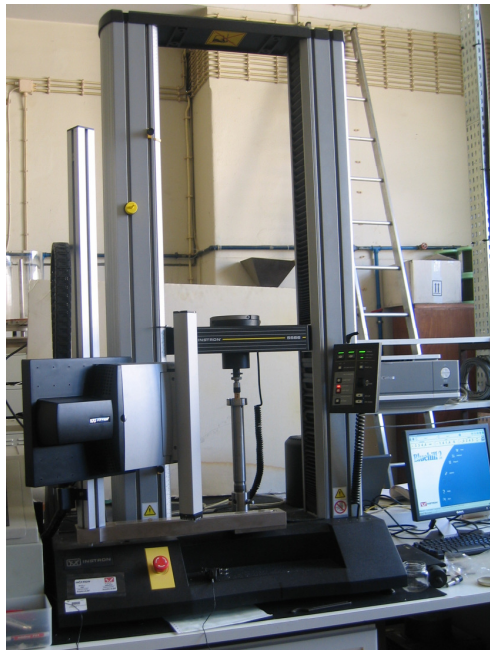


Figura 29. Máquina de ensaios mecânicos Instron 5566 utilizada, com vídeo-extensómetro acoplado.

A máquina estava acoplada a um computador munido com o software Bluehill® 2, que foi utilizado para acompanhar e manipular os parâmetros necessários a cada ensaio.

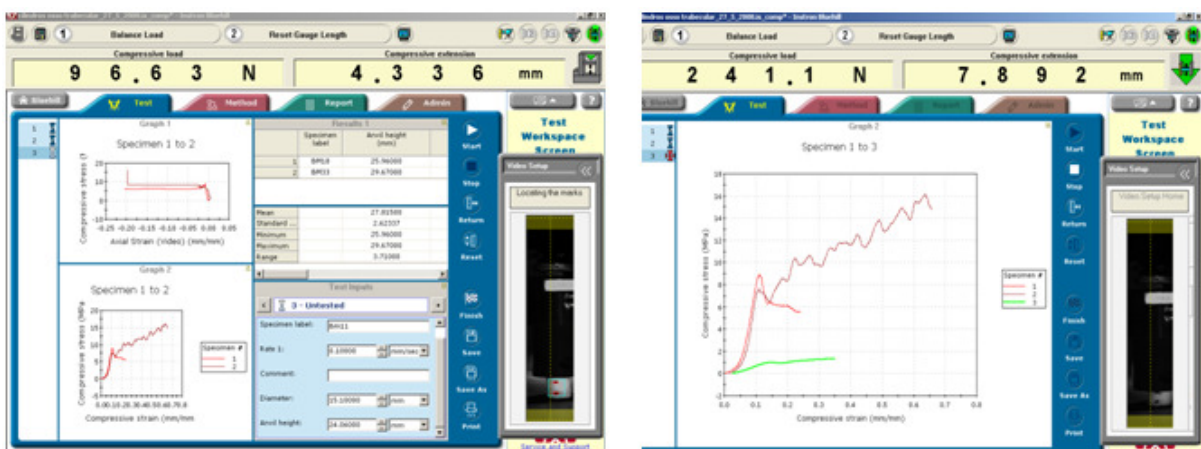


Figura 30. Ambiente de trabalho do software Bluehill.

Antes de cada ensaio efectuaram-se 3 medições para a altura e para o diâmetro de cada cilindro em diferentes direcções, utilizando um paquímetro digital, a partir dos quais se determinou a média (figura 31). Estes valores foram inseridos no software Bluehill, de modo a que este pudesse efectuar os cálculos dos parâmetros associados aos ensaios, nomeadamente a tensão e a extensão, que são obtidos a partir da força e dos deslocamentos pelas equações 6 e 7 respectivamente.



Figura 31. Medição da altura de um cilindro de osso trabecular utilizando um paquímetro digital.

O dispositivo de compressão consistia num apoio fixo inferior, no qual se colocava a amostra, e num adaptador superior que movimentava juntamente com o travessão da máquina, e que corresponde ao prato móvel do esquema da figura 16 (figura 32).



Figura 32. Dispositivo de compressão utilizado.

As amostras foram colocadas de modo a ficar o mais centrado possível no dispositivo de compressão, de modo a evitar ao máximo fenómenos de concentração de tensões excessivas e de encurvatura ou *buckling*. De modo a permitir a utilização do vídeo-extensómetro, foram feitas duas marcas pretas com um marcador na superfície do cilindro para que estas ficassem verticalmente

alinhadas. Para impedir movimentos indesejados da amostra durante a compressão, revestiu-se a extremidade do dispositivo de compressão e o apoio fixo com uma lixa de carbonato de silício. Em cada ensaio forneceu-se uma pré-carga para que quando o ensaio começasse já houvesse contacto entre o cilindro e o adaptador superior de compressão, de modo a evitar desvios laterais. Na figura 33 pode-se observar a deformação da amostra durante o ensaio de compressão.

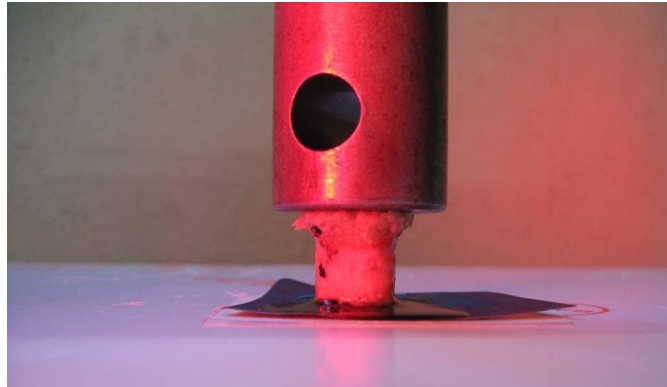


Figura 33. Cilindro de osso trabecular durante a compressão.

A figura 34 mostra uma sequência de imagens obtidas pelo vídeo-extensómetro durante a realização de um ensaio. Note-se que devido à libertação de fluidos biológicos do interior da estrutura óssea, as marcas de tinta deixam ao longo do ensaio de ser pontos bem definidos.

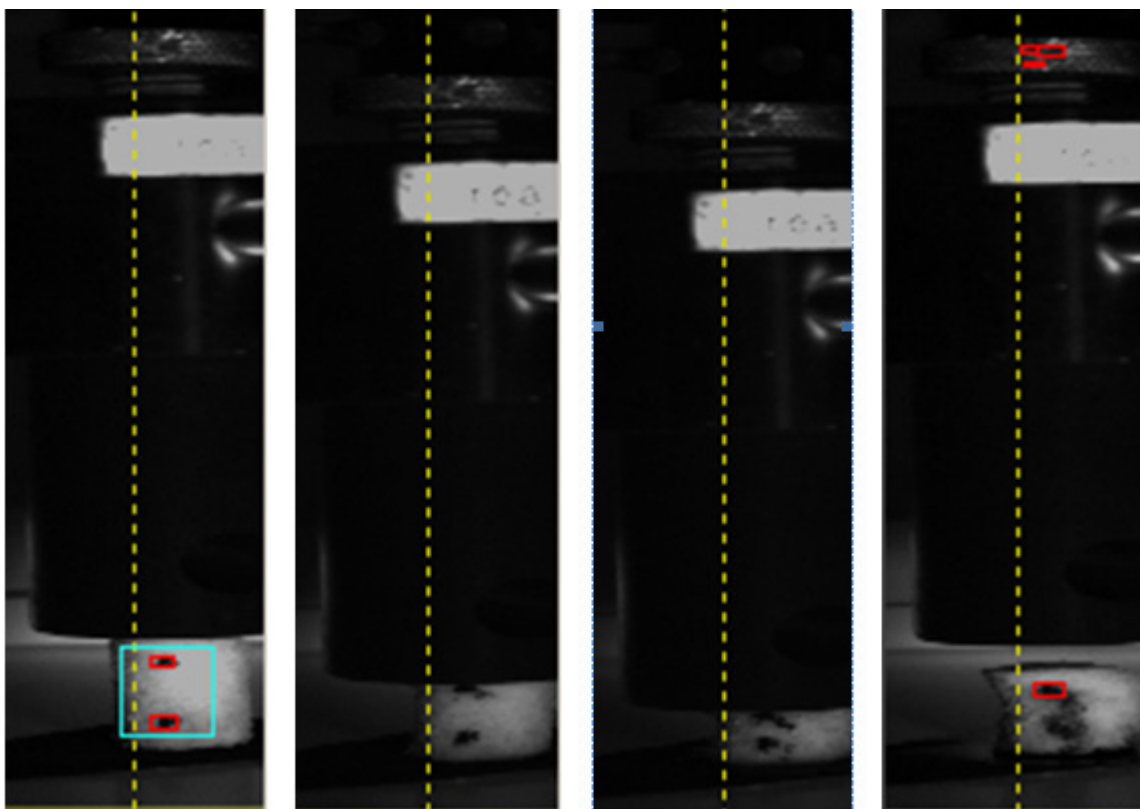


Figura 34. Imagens obtidas através da câmara do vídeo-extensómetro durante o ensaio de compressão. (a) Antes do início do ensaio, com as duas marcas detectadas delimitadas pelos rectângulos vermelhos, (b) e (c), durante a compressão, (d) depois do ensaio terminado.

2.3. Microscopia

2.3.1. SEM

Para a observação de amostras de osso trabecular em Microscopia Electrónica de Varrimento, foi necessário proceder a uma montagem que permitisse por um lado a metalização, isto é a deposição de uma camada de ouro sobre a amostra, e por outro que fornecesse um suporte físico para as mesmas. Para tal recorreu-se a pequenos discos de metal, nos quais se colou as amostras com fita adesiva (figura 35). Esta montagem foi preferida à alternativa também utilizada nestes casos, que seria incluir as amostras em resina, porque neste caso existia o risco de a resina penetrar na estrutura porosa do osso trabecular e dificultar a observação da mesma.

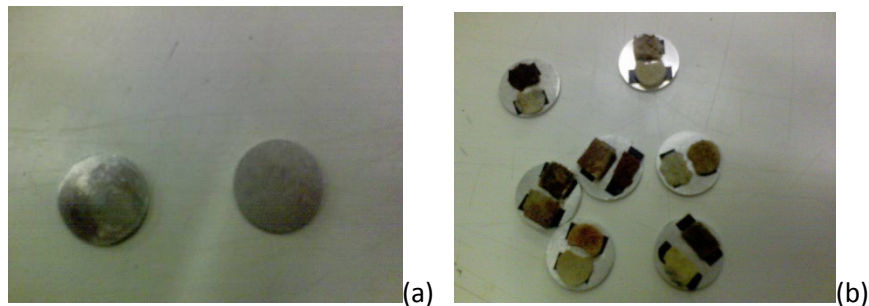


Figura 35. (a) Discos de metal antes de coladas as amostras, (b) discos de metal já com as amostras fixadas.

Assim, em cada um dos discos de metal foram coladas duas amostras, garantindo que a adesão entre a amostra e o disco era suficientemente robusta, isto é, garantindo que não havia o risco de as amostras se descolarem. Feito isto, foi necessário cobrir as amostras com uma camada de ouro de modo a torná-las condutoras, utilizando para tal uma metalizadora (figura 36).

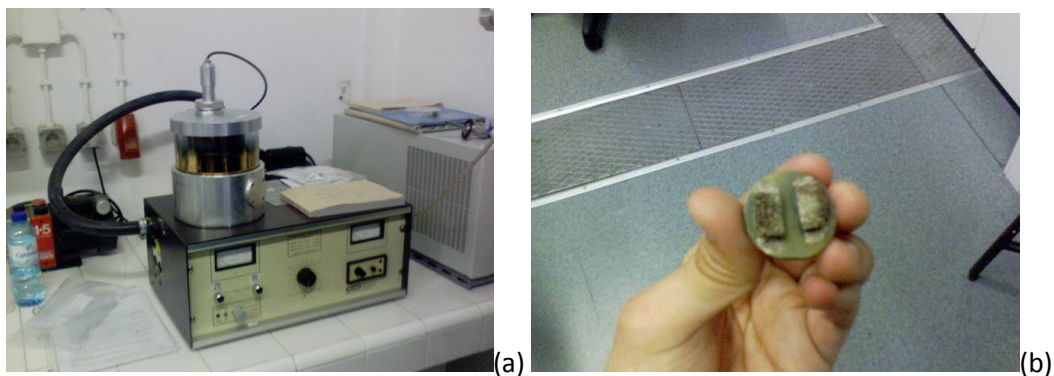


Figura 36. (a) Metalizadora utilizada para metalizar as amostras, (b) amostras já revestidas com uma camada de ouro.

Procedeu-se à aquisição de imagens num microscópio existente nas instalações do Departamento de Engenharia de Materiais do Instituto Superior Técnico e ICEMS: *Analytical SEM: Hitachi S2400*, com uma tensão de 25kV. As imagens foram obtidas usando electrões secundários e com ampliações entre 20 e 100x.



Figura 37. Imagem do microscópio electrónico de varrimento: *Analytical SEM: Hitachi S2400*, existente nas instalações do Departamento de Engenharia de Materiais do Instituto Superior Técnico e ICEMS.

2.3.2 Microscopia óptica

Para a preparação de amostras de osso trabecular para microscopia óptica foi necessário realizar um protocolo histológico que assentava em cinco passos fundamentais: descalcificação; fixação, processamento, inclusão em parafina e desparafinação e coloração.

i) Descalcificação

As amostras foram colocadas dentro de cassetes e submersas durante 24 horas numa mistura descalcificante. Esta mistura é formada por duas soluções na proporção 1:1, sendo uma solução de citrato de sódio (1000 mL de água destilada por 200 g de citrato de sódio) e uma solução de ácido fórmico (500 mL de água destilada por 500 mL de ácido fórmico 90%) (figura 38). No fim das 24 horas, determinou-se a eficácia da descalcificação, pressionando as amostras cuidadosamente. Se a descalcificação estivesse completa as amostras deveriam apresentar uma consistência macia. Caso tal não se verificasse, submergiam-se as amostras durante mais algumas horas numa solução renovada, até que as amostras apresentassem a consistência requerida.



Figura 38. Cassetes com amostras de osso trabecular no interior, submersas na solução descalcificante.

ii) Fixação

Depois de terminada a descalcificação, neutralizou-se a solução descalcificante lavando as amostras com água. Transferiram-se posteriormente as amostras para uma solução de Formalina 10 %, onde ficaram submersas durante mais 24 horas à temperatura ambiente. Depois de terminada a fixação, neutralizou-se a solução do mesmo modo que anteriormente.

iii) Processamento

As amostras foram depois transferidas para um processador automático de tecidos (figura 39), que permitiu a desidratação e a posterior inclusão em parafina das mesmas. Os passos do programa utilizado foram os seguintes, isto é, as amostras foram imersas nas soluções referidas durante o tempo indicado:

1.	Álcool 70°	1h30m
2.	Álcool 95°	1h30m
3.	Álcool 95°	1h30m
4.	Álcool 100°	1h
5.	Álcool 100°	1h30m
6.	Álcool 100°	1h30m
7.	Xilol	1h
8.	Xilol	2h
9.	Parafina	1h
10.	Parafina	2h



Figura 39. Processador automático de tecidos existente no IMM.

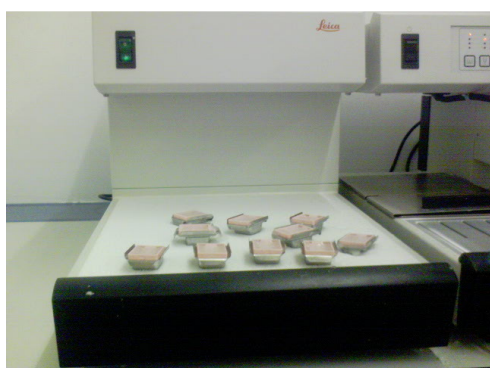
iv) Inclusão em parafina

Neste passo, recorreu-se à utilização de uma máquina de adição de parafina (figura 40). Assim, utilizaram-se moldes de metal que se encheram com parafina e colocou-se no seu interior a amostra de osso, depois de a retirar da cassette. Com o auxílio de uma pinça, manteve-se a amostra imóvel no fundo do molde enquanto se colocava o conjunto sobre uma pequena placa de arrefecimento, até que a parafina ficasse branca. Cobriu-se em seguida o molde com a cassette e adicionou-se mais um pouco de parafina.



Figura 40. Máquina de adição de parafina.

Deixou-se arrefecer durante cerca de 30 minutos numa placa de arrefecimento de maiores dimensões e depois disso retirou-se o molde de metal e o excesso de parafina da cassete (figura 41). As amostras foram cortadas num micrómetro de modo a obter cortes com uma espessura de 7 μm (figura 42) e incubadas de seguida a 60° C por uma hora.



(a)



(b)

Figura 41. (a)Placa de arrefecimento, (b) blocos de parafina no final do protocolo.



Figura 42. Micrómetro utilizado para obter os cortes com a espessura desejada.

v) Desparafinação e coloração

Depois de colocar os cortes em lâminas, foi necessário cora-los com hematoxilina-eosina de modo a permitir a observação microscópica, mas, primeiro, teve-se que proceder à sua desparafinação. Para tal foi necessário submergir as lâminas nos seguintes compostos:

- Xilol (10 minutos);
- Xilol (10 minutos);
- Álcool a 100% (mergulhar 5 vezes);
- Álcool a 100% (mergulhar 5 vezes);
- Álcool a 95% (mergulhar 5 vezes);
- Álcool a 95% (mergulhar 5 vezes);
- Álcool a 70% (mergulhar 5 vezes);
- Água da torneira (mergulhar 5 vezes);
- Hidratar em água destilada (1 minuto).

Para a coloração com hematoxilina-eosina, mergulharam-se as lâminas na seguinte sequência de soluções:

- Hematoxilina de Harris (5 minutos);
- Água destilada (mergulhar 5 vezes);
- Ácido clorídrico 1% em álcool 70% (mergulhar 3 vezes);
- Água corrente (2-3 minutos);
- Eosina aquosa a 1% (5 minutos);
- Álcool a 95% (mergulhar 5 vezes) (I);
- Álcool a 95% (mergulhar 5 vezes) (II);
- Álcool a 100% (mergulhar 5 vezes) (I);
- Álcool a 100% (mergulhar 5 vezes) (II);
- Xilol (10 minutos) (I);
- Xilol (10 minutos) (II);
- Montar em meio de montagem alcoólico.

A observação das amostras foi feita num microscópio Leica DM2500 com ampliação de 10x.

2.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com base no *software SPSS Manager*, utilizando o teste t-student ou o teste de Mann-Whitney, dependendo da distribuição das variáveis quantitativas analisadas.

3. Resultados

Neste capítulo, apresentam-se os resultados obtidos nos ensaios de compressão, na microscopia electrónica e óptica. No sentido de seleccionar as dimensões mais correctas para as amostras de osso humano, foi feito um trabalho inicial de ensaio de compressão em amostras de materiais celulares sintéticos com diferentes dimensões. Os materiais usados (sawbones) são espumas de poliuretano rígido que têm um comportamento que se assemelha ao do osso trabecular. Com amostras de poliuretano e de algumas das amostras de osso trabecular, determinou-se o factor que permite relacionar os dados obtidos pelo vídeo-extensómetro com os dados obtidos através do deslocamento do travessão. Na secção 3.3. apresentam-se os resultados dos ensaios de compressão que são posteriormente analisados.

3.1. Análise do efeito das variações das dimensões das amostras em ensaios de compressão.

Uma questão que se colocou previamente à realização dos ensaios de compressão das amostras de osso trabecular dizia respeito às dimensões dos cilindros que otimizariam os resultados a obter, nomeadamente no que diz respeito à relação entre o diâmetro das bases do cilindro e a sua altura, e se estas dimensões afectariam consideravelmente o comportamento à compressão. Como já se referiu, alguma literatura sugere que as dimensões ideais dos cilindros a ensaiar em compressão, devem ser tais que o rácio h/d seja 2. De modo a verificar a influência das dimensões do cilindro no ensaio de compressão, recorreu-se à utilização de materiais de teste biomecânicos disponibilizados pela empresa Sawbones®. Estes materiais consistem em espumas de poliuretano, que possuem propriedades físicas uniformes e consistentes que, como tal, não possuem a variabilidade de comportamento comum nos tecidos biológicos, embora possuam uma resposta a solicitações mecânicas dentro dos limites daquela que é esperada no osso trabecular. Assim sendo, este material era ideal de modo a permitir comparar a resposta à compressão entre diferentes amostras tendo como garantia que apenas os parâmetros diâmetro e altura variavam, coisa que era impossível de garantir caso usássemos tecido biológico.

Os dois tipos de espuma utilizados foram, seguindo a designação da empresa [41], a Solid Rigid Polyurethane Foam (SRPF) e a Celular Rigid Polyurethane Foam (CRPF). A SRPF possui 96 a 99.9% de células fechadas, enquanto que a CRPF, possui uma estrutura celular 95% mais fechada quando comparada com estrutura celular aberta do osso trabecular, variando os tamanhos das células entre os 0,5 e os 2,0 mm, ou seja a SRPF apresenta uma estrutura mais aberta quando comparada com a CRPF. Realizaram-se ensaios de compressão em 17 cilindros, com velocidade de 0.1 mm/s tal como descrito em 2.2.

Pode-se agrupar os ensaios de compressão realizados em 6 grupos, tendo as amostras utilizadas em cada grupo em comum, o tipo de *sawbone* que a constituem e a sua densidade, ou seja, variando entre si apenas as dimensões físicas. Nos 4 primeiros grupos utilizaram-se cilindros que entre si eram similares no tipo de espuma e no diâmetro, variando apenas a altura, e consequentemente o rácio altura: diâmetro, tendo sido utilizados os rácios 2:1, 1:1 e um rácio

intermédio. No grupo 5 todos os cilindros eram constituídos pelo mesmo tipo de espuma, tendo-se utilizado os dois diâmetros disponíveis (11 e 14 mm) em conjugação com dois rácios h/d distintos. No grupo 6 utilizou-se dois cilindros do mesmo tipo de espuma, com mesmo rácio mas com diâmetros diferentes. Obtiveram-se curvas σ - ε para cada uma das amostras testadas, que estão agrupadas na figura 43.

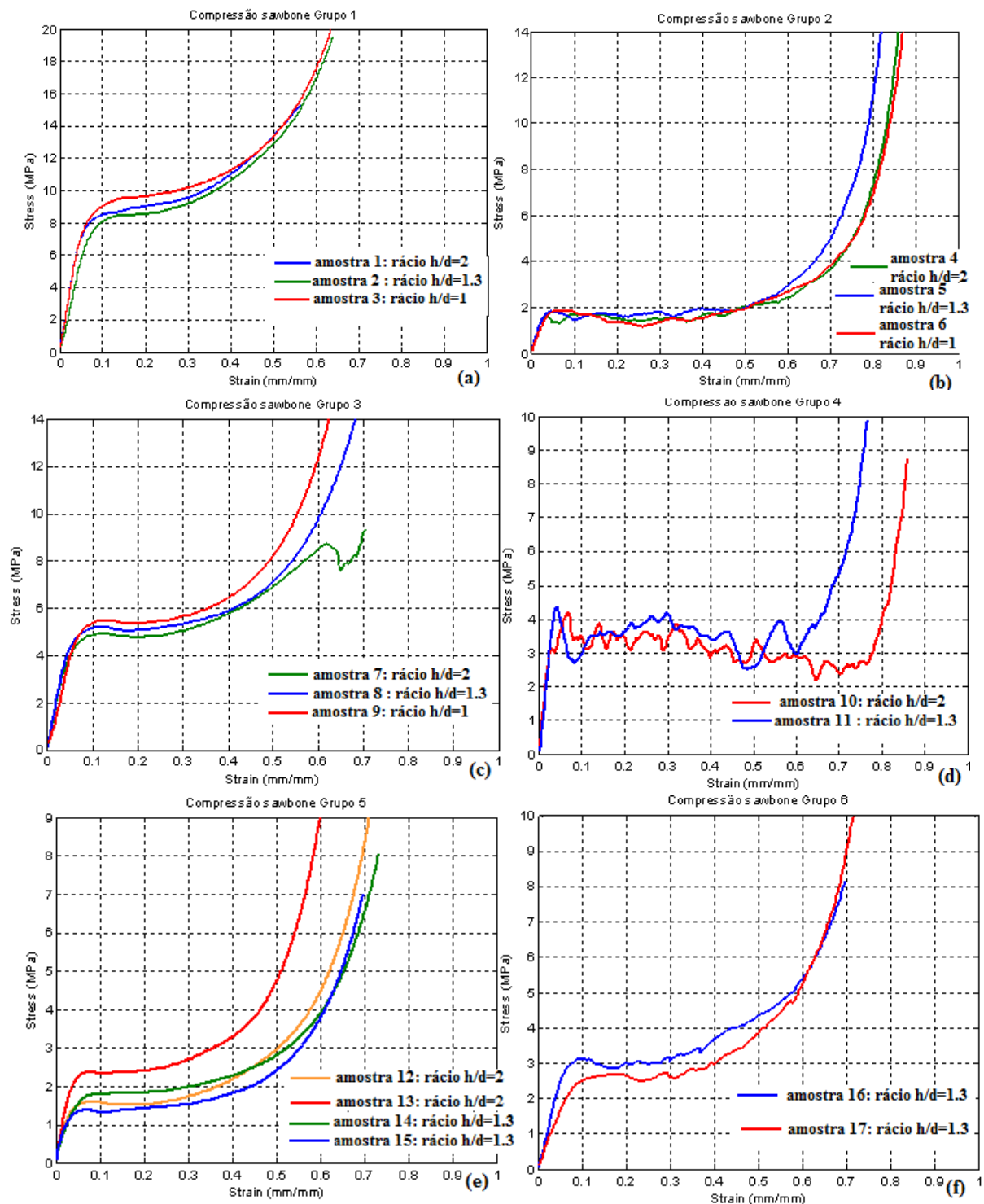


Figura 43. Curvas σ - ε obtidas para as diversas amostras ensaiadas, agrupadas tendo em conta o tipo de sawbone e a densidade. (a) Grupo 1: SRPF, $\rho=0.32\text{g/cm}^3$; Grupo 2: CRPF, $\rho=0.16\text{g/cm}^3$; Grupo 3: SRPF, $\rho=0.24\text{g/cm}^3$; Grupo 4: CRPF, $\rho=0.32\text{g/cm}^3$; Grupo 5: SRPF, $\rho=0.16\text{g/cm}^3$; Grupo 6: CRPF, $\rho=0.20\text{g/cm}^3$.

Note-se que nestes ensaios não se utilizou o vídeo-extensómetro, sendo as extensões determinadas através do deslocamento do travessão da máquina de ensaios mecânicos. A partir destas curvas $\sigma-\epsilon$, determinaram-se as propriedades mecânicas de cada amostra: tensão de cedência, módulo de elasticidade e energia absorvida até à cedência. Os cálculos destas propriedades, foram realizados com base nos conceitos apresentados na secção 1.4. e recorrendo ao software comercial MATLAB®. A figura 44 ilustra o procedimento utilizado, para a determinação da tensão de cedência, para um caso com cedência visível (amostra 11), em que a tensão de cedência é calculada como sendo o máximo valor de tensão atingido.

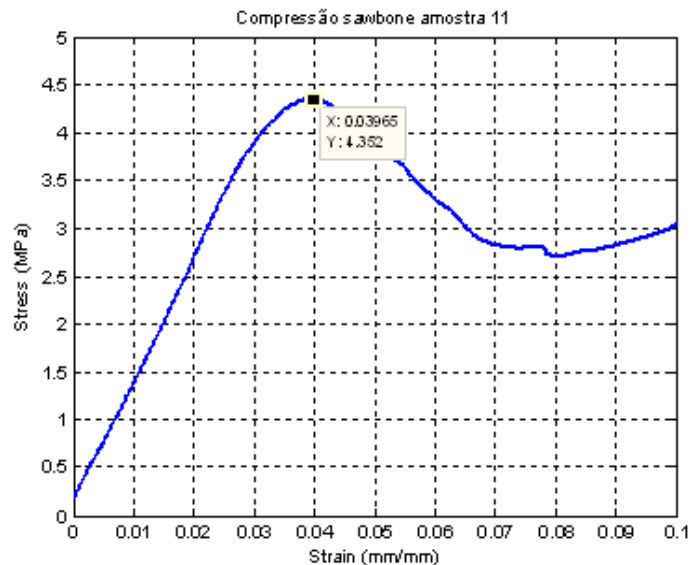


Figura 44. Exemplificação da determinação da tensão de cedência num caso com cedência visível.

Para a obtenção do módulo de elasticidade, utilizou-se uma regressão linear na zona de comportamento elástico da curva $\sigma-\epsilon$, e considerou-se o declive da equação fornecida como sendo o módulo de elasticidade (figura 45).

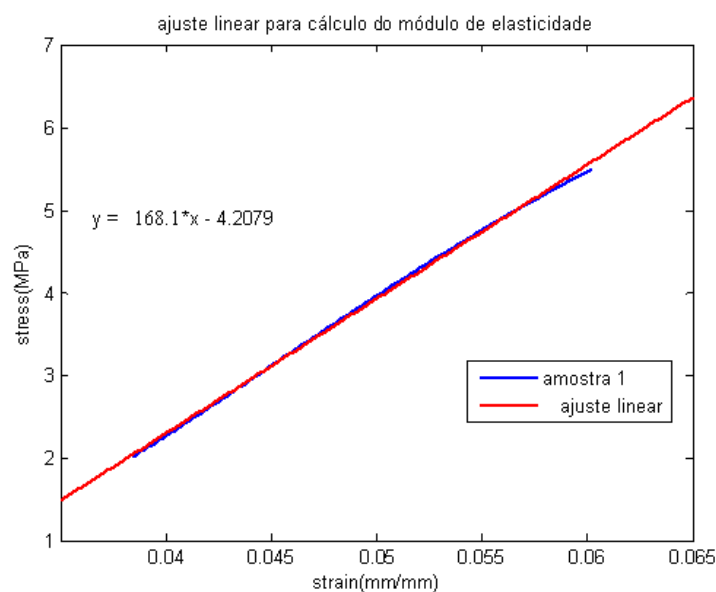


Figura 45. Exemplo da obtenção do módulo de elasticidade recorrendo a um ajuste linear na zona de comportamento elástico.

De modo a determinar a energia absorvida até à cedência, seleccionou-se o troço da curva que antecede este ponto (a zona de comportamento linear), e determinou-se a área abaixo deste, que corresponde à energia absorvida.

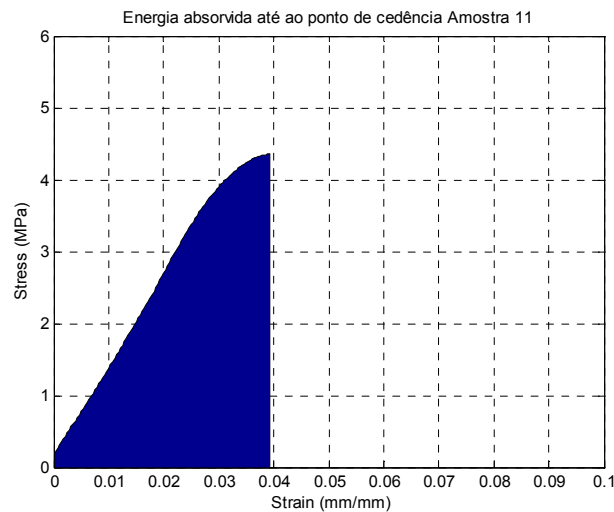


Figura 46. A azul, indica-se a área abaixo do troço da curva σ - ϵ até ao ponto de cedência, que corresponde à energia absorvida e que é calculada pelo software utilizado.

A tabela 1, resume as propriedades fornecidas pela empresa produtora destes materiais, e os resultados obtidos nos ensaios mecânicos de compressão.

Analisando primeiramente as curvas σ - ϵ obtidas (figura 43), verificamos como seria expectável, que as amostras pertencentes ao mesmo grupo, isto é, constituídas pelo mesmo material, apresentam um comportamento à compressão muito semelhante entre si, tanto na fase elástica como na fase plástica e na densificação. Quando comparamos os diferentes grupos entre si, existem diferenças claras de comportamento. Também é visível desde logo que as curvas das amostras CRPF, mais “abertas”, apresentam mais oscilações, isto é, variações bruscas de comportamento, principalmente na fase plástica, devido provavelmente à cedência progressiva das células que constituem este material, e que inclusive parece aumentar a extensão do patamar que caracteriza esta fase. Estas oscilações parecem ser mais evidentes no grupo 4, que é o que apresenta uma maior densidade ($0,32 \text{ g/cm}^3$), o que sugere que em materiais de maior densidade e com uma estrutura celular mais aberta, será de prever um maior afastamento ao comportamento ideal em compressão, e que conseqüentemente poderá gerar maiores dificuldades na determinação das propriedades mecânicas.

Tabela 1. Resumo das propriedades materiais fornecidas e determinadas para cada uma das amostras ensaiadas.

Grupo	Tipo de Sawbone	Propriedades materiais fornecidas *				Identificação da Amostra	h (mm)	d (mm)	Rácio h/d	Propriedade materiais determinadas		
		ρ (g/cm ³)	σ_{ced} (MPa)	E (MPa)	σ_{ced} (MPa)					E (MPa)	W_{ced} (N.mm/mm ³)	
1	SRPF	0.32	8,9	256	1	28	14	2	7.8	168.1	0.32	
					2	18	14	1.3	7.7	132	0.37	
					3	14	14	1	8.6	164.3	0.44	
					Média				8.003±0.493	154.8±19.84	0.377±0.06	
2	CRPF	0.16	2,3	23	4	28	14	2	1.62	59.8	0.033	
					5	18	14	1.3	1.8	62.2	0.054	
					6	14	14	1	1.83	52	0.063	
					Média				1.75±0.114	58±5.34	0.05±0.015	
3	SRPF	0.24	5,2	157	7	22	11	2	4.9	85.4	0.34	
					8	14	11	1.3	5.2	94.9	0.42	
					9	11	11	1	5.5	88.2	0.45	
					Média				5.2±0.3	89.5±4.88	0.403±0.057	
4	CRPF	0.32	5,4	137	10	22	11	2	4.2	121	0.19	
					11	14	11	1.3	4.35	128.6	0.11	
					12	22	11	2	1.6	60.15	0.091	
					Média				4.275±0.106	124.8±5.37	0.094±0.22	
5	SRPF	0.16	2,4	77	13	28	14	2	2.37	66.83	0.11	
					14	14	11	1.3	1.81	42.84	0.11	
					15	18	14	1.3	1.38	52.01	0.063	
					Média				1.79±0.425	55.46±10.37	0.094±0.22	
6	CRPF	0.20	3.9	45.7	16	18	14	1.3	3.1	51.85	0.19	
					17	14	11	1.3	2.27	29.5	0.23	
							Média				2.685±0.587	40.68±15.8

* Consultadas no website da empresa [41].

Analisando a tabela 1, é visível desde logo que os valores determinados para a tensão de cedência e para o módulo de elasticidade das 17 amostras testadas, afastam-se consideravelmente dos valores fornecidos pelo fabricante. Esta ocorrência poderá ser explicada por diversos factores, desde logo pelo facto de não conhecermos a forma como estas propriedades foram determinadas, isto é, que tipos de amostras (geometria, dimensões, etc.) foram utilizadas, que tipo de máquina de compressão foi utilizada e qual a sua rigidez, ou se foi utilizado ou não, um extensómetro para medir as extensões. Assim, não será estranho verificarmos este tipo de variações nas propriedades tabeladas em relação às determinadas, visto existirem diversos factores que podem variar e que conseqüentemente podem levar à obtenção de valores discrepantes. Analisando agora a variação dos valores obtidos dentro de cada grupo, verificamos existir alguma oscilação, como podemos ver pelos desvios padrão calculados. Esta oscilação parece contudo ser bastante menor nos grupos 1,2,3 e 4, nos quais as amostras que os constituíam possuíam todas o mesmo diâmetro, variando apenas a sua altura, e conseqüentemente o rácio h/d, do que nos grupos 5 e 6, onde se estabeleceram variações de diâmetros, e onde inclusivamente se verificam oscilações bastante significativas para amostras com o mesmo rácio h/d mas com diferentes alturas e diâmetros, tal como é o caso das amostras 12 e 13, e das amostras 16 e 17. Isto poderá ser um indício de que o diâmetro da amostra a utilizar, poderá ter uma maior influência na determinação das propriedades mecânicas, do que a altura do provete, ou seja, variações no diâmetro dos provetes utilizados numa série de ensaios mecânicos, poderão gerar afastamentos consideráveis dos resultados obtidos, face ao que se obteriam caso todos os provetes possuísem o mesmo diâmetro, não se esperando que o mesmo aconteça quando se varia a altura do provete, desde que o diâmetro permaneça constante. Confrontando os grupos 1 e 2, onde o diâmetro das bases dos cilindros foi 14 mm, com os grupos 3 e 4, onde o diâmetro utilizado foi 11 mm, parece que a oscilação é menor quando o diâmetro da base é 11 mm, principalmente ao nível do módulo de elasticidade, o que sugere que existe um rácio entre as dimensões do prato de compressão móvel e as dimensões das bases dos provetes que otimiza os resultados obtidos, contudo é complicado obter uma conclusão concreta com um número tão reduzido de ensaios realizados. Segundo estes resultados, a propriedade mecânica que mais é afectada pelas variações de dimensões das amostras é a W_{ced} , destacando-se consideravelmente da σ_{ced} e do E, que ao nível dos grupos 1, 2, 3 e 4, apresentam variações reduzidas, sendo na esmagadora maioria dos casos, o desvio padrão inferior a 1/10 do valor médio calculado para cada grupo. É por isso, que nos cilindros de osso trabecular ensaiados, se utilizou sempre o mesmo diâmetro da base, cerca de 15 mm, visto todos terem sido extraídos das respectivas cabeças de fémur com a mesma broca, não se esperando grande interferência da variação da altura do cilindro nas propriedades determinadas, pelo menos no caso da σ_{ced} e do E, e quando comparado com outros factores que podem reduzir a precisão dos ensaios de compressão, tal como o não-alinhamento do provete com o dispositivo de compressão, o não-paralelismo das bases do provete, ou a não homogeneidade do provete.

3.2. Determinação do factor para a correcção da complacência da máquina de ensaios mecânicos.

Como já se referiu anteriormente, a utilização do deslocamento do travessão da máquina de ensaios mecânicos, para medir a deformação da amostra em compressão não é um método rigoroso, nomeadamente devido à complacência da própria máquina, que afecta a determinação da extensão experimentada pela amostra ao longo da compressão, sobrestimando-a, visto esta ter a contribuição da deformação do próprio dispositivo de compressão. Assim, de modo a contornar este problema, recorreu-se à utilização de um vídeo-extensómetro, de forma a medir a deformação directamente na amostra, através da variação da distância entre dois pontos colocados previamente na superfície do cilindro e reconhecidos opticamente pelo vídeo-extensómetro, que vai calculando como a distância entre estes dois pontos varia ao longo da compressão, obtendo-se assim, uma medida da deformação da amostras independente do dispositivo de compressão. Contudo, o recurso a esta ferramenta não se revelou trivial, surgindo ao longo dos ensaios realizados, diversas dificuldades, que impediram a sua utilização, ou que, fizeram com que os resultados obtidos por esta, não possuíssem os requisitos para serem utilizados neste trabalho. Entre estas dificuldades verificadas na utilização do vídeo-extensómetro, encontram-se o facto de alguns dos cilindros ensaiados possuírem uma altura demasiado reduzida, o que impediu o reconhecimento das duas marcas efectuadas na sua superfície, visto estas encontrarem-se a uma distância demasiado pequena para serem reconhecidas como duas marcas distintas pelo sistema. Para além disso, verificou-se que muitas das curvas σ - ϵ não podiam ser utilizadas para a determinação das propriedades mecânicas do osso ensaiado, visto não possuírem as características normais esperadas numa curva σ - ϵ de compressão, por exemplo, o facto de na zona linear apresentarem um declive negativo (figura 47).

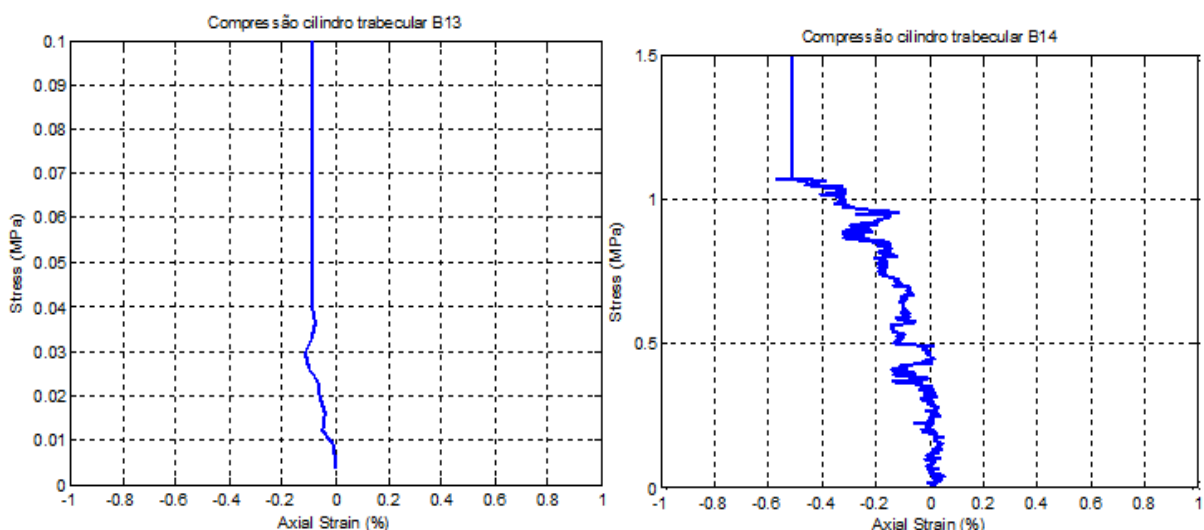


Figura 47. Exemplo de curvas obtidas para dois cilindros de osso trabecular ensaiados, utilizando o vídeo-extensómetro para medir a extensão ao longo da aplicação da carga.

Este comportamento pode ser explicado em parte pela estrutura celular não homogénea do osso trabecular, que faz com que a amostra não se deforme uniformemente, ou seja, existem zonas que se poderão deformar mais do que outras, ao contrário do que acontece em materiais

homogêneos, como o aço ou o alumínio. Assim, estas diferenças na deformação podem-se reflectir, por exemplo, no aumento da distância entre os pontos de referência do vídeo-extensómetro, contrariamente ao que é esperado em compressão, o que faz com que a curva tome declives negativos.

Também o reconhecimento dos pontos pelo vídeo-extensómetro, pode ser comprometido pela cedência da estrutura ao longo da compressão, podendo o vídeo-extensómetro deixar de ser capaz de os reconhecer, caso a zona onde estes estejam marcado se danifique, provocando com que a curva σ - ε , se transforme numa recta vertical, visto para o software a partir deste momento, Δl passar a ser zero, o que segundo a equação 8, provoca um declive infinito.

Perante estas questões, tentou encontrar-se um factor de correcção, que permitisse corrigir os valores do módulo de elasticidade obtidos através da análise das curvas σ - ε , em que a extensão é monitorizada pelo movimento do travessão da máquina de ensaios ($E_{\text{travessão}}$). Para tal utilizaram-se inicialmente cilindros de poliuretano, que foram ensaiados nas mesmas condições que os cilindros de osso trabecular, e a partir destes ensaios, esquematizaram-se as curvas σ - ε obtidas tanto pela medição do deslocamento pelo vídeo-extensómetro (σ - $\varepsilon_{\text{video}}$), como pelo deslocamento do travessão da máquina de ensaios (σ - $\varepsilon_{\text{travessão}}$). A partir destas curvas, tentou-se estabelecer uma relação entre os módulos de elasticidades, calculando uma constante m , que é o quociente do módulo de elasticidade, E_{video} obtido pela análise da curva σ - $\varepsilon_{\text{video}}$, pelo módulo de elasticidade $E_{\text{travessão}}$, obtido na curva σ - $\varepsilon_{\text{travessão}}$.

$$m = \frac{E_{\text{video}}}{E_{\text{travessão}}} \quad (11)$$

Esta constante estará assim, relacionada com a rigidez e a complacência da máquina de ensaios (secção 1.4.1.1.), e poderá ser usada para determinar uma aproximação do módulo de elasticidade real, que admitimos ser aquele que se obteria pela utilização do vídeo-extensómetro, simplesmente multiplicando-a pelo $E_{\text{travessão}}$ (12), nos casos em que a utilização do vídeo-extensómetro não foi exequível, ou em que os resultados por este obtidos não puderam ser utilizados.

$$E_{\text{real}} = m.E_{\text{travessão}} \quad (12)$$

Note-se que os valores mais rigorosos de deformação devem ser os obtidos a partir do vídeo-extensómetro e serão esses a serem usados sempre que não houver problemas como os reflectidos anteriormente. Na figura 48, podemos ver as curvas σ - $\varepsilon_{\text{video}}$ e σ - $\varepsilon_{\text{travessão}}$ obtidas para um mesmo cilindro de poliuretano e verificar a diferença de extensão que é mensurada em cada um dos casos para uma mesma tensão aplicada.

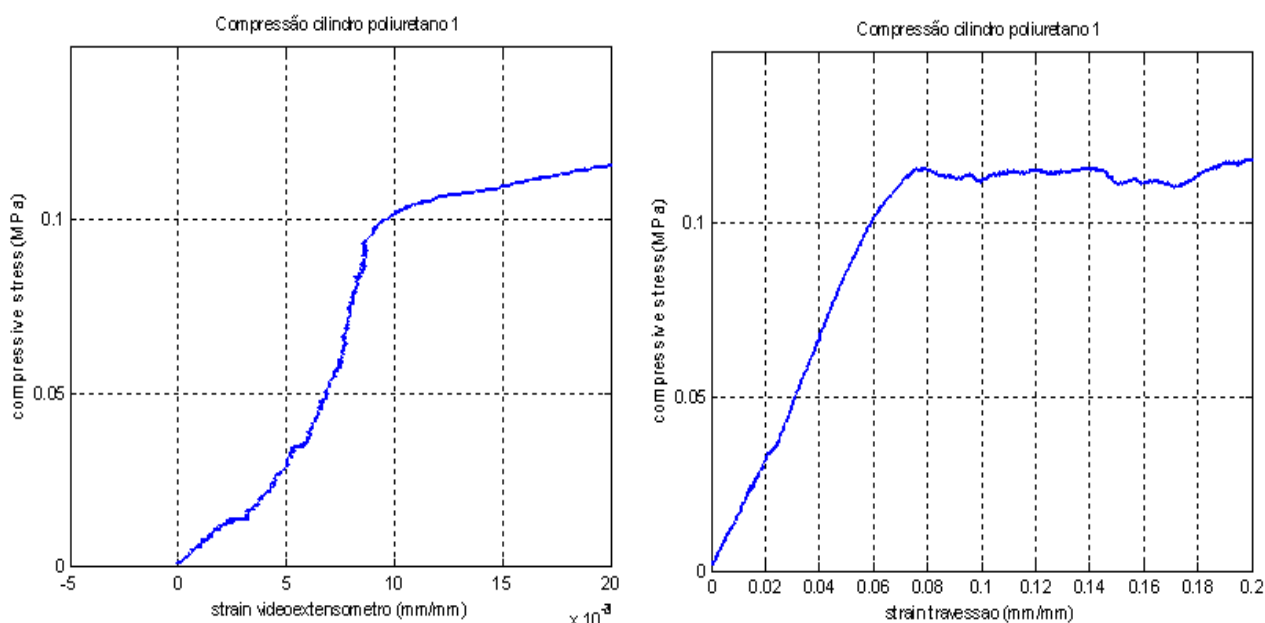


Figura 48. Curvas σ - $\varepsilon_{\text{video}}$ e σ - $\varepsilon_{\text{travessão}}$, obtidas para um a compressão do mesmo cilindro de poliuretano.

A partir destas curvas, e para 4 cilindros de poliuretano, calcularam-se os módulos de elasticidade respectivos, da mesma forma que foi utilizada anteriormente no caso dos sawbones, e a partir destes, as constantes m , que se designaram neste caso $m_{\text{poliuretano}}$ (tabela 2).

Tabela 2. Síntese dos dados obtidos relativos aos testes nos 4 cilindros de poliuretano.

Cilindros de Poliuretano	E_{video} (MPa)	$E_{\text{travessão}}$ (MPa)	$m_{\text{poliuretano}}$
Poliuretano 1	14.284	2.252	6.341
Poliuretano 2	13.33	2.083	6.401
Poliuretano 3	4.878	0.7097	6.850
Poliuretano 4	11.562	1.715	6.741
		média $m_{\text{poliuretano}}$	6.583±0.250

Como se verificou que os diferentes valores determinados para o parâmetro $m_{\text{poliuretano}}$ se aproximavam bastante, tal sugeriu que era possível estabelecer um procedimento semelhante para as amostras de osso trabecular testadas, das quais possuíamos curvas σ - $\varepsilon_{\text{video}}$ passíveis de serem analisadas. Desta forma, utilizando 23 amostras de osso trabecular, determinou-se para cada uma o E_{video} e o $E_{\text{travessão}}$, e a partir destas determinou-se o parâmetro $m_{\text{trabecular}}$ da mesma forma que no caso dos cilindros de poliuretano. Os resultados estão indicados na tabela 3.

Tabela 3. Síntese dos dados obtidos relativos aos ensaios de compressão em cilindros de osso trabecular.

Cilindros de osso trabecular	E_{video} (MPa)	E_{travessão} (MPa)	m_{trabecular}
Bm11	93.023	13.227	7.033
Bm18	473.93	76.045	6.23
Bm19	676.78	97.18	6.96
Bm20	952.38	132	7.21
Bm21	1888.7	304.4	6.20
Bm22	423.72	66.225	6.397
Bm33	666.66	110.01	6.055
Bm34	1059	160	6.61
Bm23	126.08	20.718	6.085
Bm26	64	10.62	6.02
Bm32	330	47	7.02
Bm35	125	18	6.94
Bm36	2270	312	7.2
Bm85	600	85	7.05
Bm80	870	128	6.78
Bm73	500	80	6.25
Bm74	2660	400	6.65
Bm89	200	28	7.14
Bm143	500	71	7.04
Bm147	750	107	7.00
Bm66	330	48	6.875
Bm70	1176	180	6.53
Bm75	1538	222	6.93
média m_{trabecular}			6.705±0.400

Tal como verificado anteriormente, os valores de $m_{trabecular}$ determinados não apresenta grandes variações, ficando inclusive bastante próximos dos valores de $m_{poliuretano}$. Assim, decidiu-se utilizar o valor médio dos vários $m_{trabecular}$ como sendo a constante de correcção a utilizar, para corrigir os valores de $E_{travessão}$ de forma a obter o valor de E_{real} (através da equação 12), nos casos em que não possuímos o E_{video} .

3.3. Ensaio de compressão em cilindros de osso trabecular

As cabeças de fémur utilizadas neste estudo foram divididas em 4 grupos: fracturas em indivíduos do sexo feminino (FF), fracturas em indivíduos do sexo masculino (FM), coxartroses em indivíduos do sexo feminino (CF) e coxartroses em indivíduos do sexo masculino (CM), todas provenientes de doentes submetidos a artroplastia total da anca. Nos ensaios de compressão, utilizaram-se cilindros extraídos destas cabeças de fémur, todos com um diâmetro próximo de 15 mm (diâmetro médio=15.06±0.27 mm), pois todos foram extraídos com a mesma broca craniana, variando apenas a sua altura, que foi estabelecida como sendo, a que proporcionasse um rácio h/d o mais próximo possível de 2, visto ser aquele que é considerado o ideal pela literatura consultada [1,35]. A aproximação a este valor não foi possível na maioria dos casos devido a vários motivos, existindo uma variação considerável no rácio h/d, apresentado pelos diversos cilindros testados, não se esperando contudo, que estas variações afectem consideravelmente os resultados obtidos, tendo em conta o que se constatou na secção 3.1. Entre os motivos que impossibilitaram a utilização do mesmo rácio h/d em todos os cilindros ensaiados, encontramos o facto de muitas das epífises de fémur utilizadas possuírem dimensões demasiado reduzidas, o que impediu a obtenção de cilindros com uma altura suficiente para se obter o rácio h/d desejado (note-se que sendo o diâmetro de todos os cilindros aproximadamente 15 mm, seria necessário uma altura de cerca 30 mm para se atingir o desejável). Também o facto de os cilindros extraídos possuírem imperfeições, que limitavam o local de execução dos cortes, ou que obrigavam a um maior polimento das bases dos cilindros, de modo a que estas ficassem o mais paralelas possível foram factores, que diminuíam a altura final dos cilindros trabeculares. As tabelas 4, 5 e 6, resumem as características das cabeças de fémur utilizadas (diâmetro e espessura cortical) e dos cilindros extraídos (densidade e rácio h/d). Em anexo, a tabela A.1, discrimina os resultados para cada amostra.

Tabela 4. Detalhes dos grupos de cabeças de fémur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando géneros da mesma patologia.

Grupo	Nº cabeças de fémur	Idade (anos)	Diâmetro da cabeça de fémur (mm)	Espessura cortical (mm)	Densidade trabecular (g/cm ³)	Rácio h/d dos cilindros testados
FF	15	82.5±5.7	43.315±2.070	2.302±0.569	1.297±0.110	1.259±0.316
FM	8	88.0±5.4	49.553±1.729	2.23±0.362	1.321±0.079	1.388±0.250
p-value	-	0,397**	0,197**	0,750*	0,333**	0.333*
CF	8	49.5±12.0	47.735±3.582	1.666±0.563	1.328±0.052	1.508±0.496
CM	7	45.0±20.7	49.643±3.421	1.834±0.681	1.453±0.300	1.494±0.403
p-value	-	0,647*	0,313*	0,728**	0,316*	0,956*

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

Tabela 5. Detalhes dos grupos de cabeças de fêmur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando patologias do mesmo gênero.

Grupo	Nº cabeças de fêmur	Idade (anos)	Diâmetro da cabeça de fêmur (mm)	Espessura cortical (mm)	Densidade (g/cm ³)	Rácio h/d dos cilindros testados
FF	15	85.2±5.7	43.315±2.070	2.302±0.569	1.297±0.110	1.259±0.316
CF	8	49.5±12.0	47.735±3.582	1.666±0.563	1.328±0.052	1.508±0.496
p-value	-	0*	0.001*	0.018*	0.121**	0.278*
FM	8	88±5.4	49.553±1.729	2.23±0.362	1.321±0.079	1.388±0.250
CM	7	45.0±20.7	49.643±3.421	1.834±0.681	1.453±0.300	1.494±0.403
p-value	-	0*	0.908**	0.132**	0.395*	0.404*

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

Tabela 6. Detalhes dos grupos de cabeças de fêmur utilizadas e dos cilindros ensaiados, comparando fracturas e coxartroses de forma global.

Grupo	Nº cabeças de fêmur	Idade (anos)	Diâmetro da cabeça de fêmur (mm)	Espessura cortical (mm)	Densidade (g/cm ³)	Rácio h/d dos cilindros testados
Fracturas	23	82.9±16.97	43.66±9.33	2.21±0.587	1.257±0.257	1.278±0.270
Coxartrose	15	45.47±17.16	45.92±11.4	1.671±0.634	1.305±0.378	1.500±0.456
p-value		0*	0.012*	0.05*	0.114*	0.332*

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

Na tabela 4 observa-se que a diferença entre sexo masculino e feminino nos grupos com fractura do colo do fêmur e com coxartrose no geral, não são significativas considerando os parâmetros idade, diâmetro da cabeça, espessura da cortical, densidade e rácio h/d. Contudo, o mesmo não se verifica nas tabelas 5 e 6, onde as diferenças destes parâmetros nos grupos em comparação são no geral mais significativas, especialmente ao nível da idade. A partir dos ensaios de compressão, obtiveram-se curvas σ - ϵ_{video} e σ - $\epsilon_{\text{travessão}}$, que se utilizaram para determinar as propriedades mecânicas de cada amostra de osso trabecular. As propriedades determinadas foram a tensão de cedência, o módulo de elasticidade real e a energia absorvida até à cedência, ou seja, apenas nos debruçamos sobre as propriedades que delimitam a fase elástica do comportamento mecânico, ignorando de certa forma, as fases de regime plástico e a densificação, em muito casos difíceis de identificar. A σ_{ced} e a W_{ced} , foram determinadas como se referiu em 1.4. Neste último parâmetro, note-se que se utilizou apenas as curvas σ - $\epsilon_{\text{travessão}}$ na sua avaliação, pelo que os valores obtidos não serão “reais”, tendo um erro associado inerente ao declive da fase elástica (módulo de elasticidade), que sobrestimar os seus valores. Contudo para efeitos de comparação estes resultados poderão ser utilizados. Em relação ao módulo de elasticidade real, este foi determinado segundo o que foi referido na secção anterior. Na figura 49, podemos ver exemplos de curvas obtidas para cada um dos grupos. Constatase mais uma vez, através das curvas σ - ϵ da figura 49, que existe uma diferença clara entre as

extensões medidas pelo vídeo-extensômetro e pelo movimento do travessão da máquina de ensaios. Também é facilmente constatável que as curvas $\sigma-\varepsilon_{\text{vídeo}}$ apresentam um comportamento menos “regular”, quando comparadas com as curvas $\sigma-\varepsilon_{\text{travessão}}$, o que dificulta bastante a determinação das propriedades mecânicas do material através da sua utilização. As tabelas 7, 8 e 9 sintetizam os resultados obtidos. Os resultados discriminados podem também ser consultados no anexo A.1.

Tabela 7. Resumo das propriedades mecânicas obtidas para os diferentes grupos considerados: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), comparando sexos com a mesma patologia.

Grupo	σ_{ced}	E_{real}	W_{ced}
	(MPa)	(MPa)	(N.mm/mm³)
FF	4.16±2.49	507.77±681.92	0.264±0.175
FM	6.82±3.65	783.45±745.47	0.361±0.195
p-value	0,05*	0.385**	0,243*
CF	10.023±3.904	972.75±896.02	0.533±0.323
CM	8.069±4.518	1091.82±1157.11	0.264±0.156
p-value	0,385*	0.826*	0,049**

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

Tabela 8. Resumo das propriedades mecânicas obtidas para os diferentes grupos considerados: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), comparando patologias do mesmo sexo.

Grupo	σ_{ced}	E_{real}	W_{ced}
	(MPa)	(MPa)	(N.mm/mm³)
FF	4.16±2.49	507.77±681.92	0.264±0.175
CF	10.023±3.904	972.75±896.018	0.533±0.323
p-value	0*	0.146**	0.039**
FM	6.82±3.65	783.45±745.47	0.361±0.195
CM	8.069±4.518	1091.82±1157.11	0.264±0.156
p-value	0.565*	0.545*	0.317*

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

Tabela 9. Resumo das propriedades mecânicas obtidas: tensão de cedência (σ_{ced}), módulo de elasticidade (E_{real}) e energia absorvida até à cedência (W_{ced}), considerando fracturas e coxartroses de forma global.

Grupo	σ_{ced}	E_{real}	W_{ced}
	(MPa)	(MPa)	(N.mm/mm³)
Fracturas	4.944±3.054	602±671.19	0.292±0.178
Coxartroses	8.069±4.518	1017.27±926.18	0.410±0.27
p-value	0.002*	0.130*	0.347**

* teste t-student

**teste Mann-Whitney

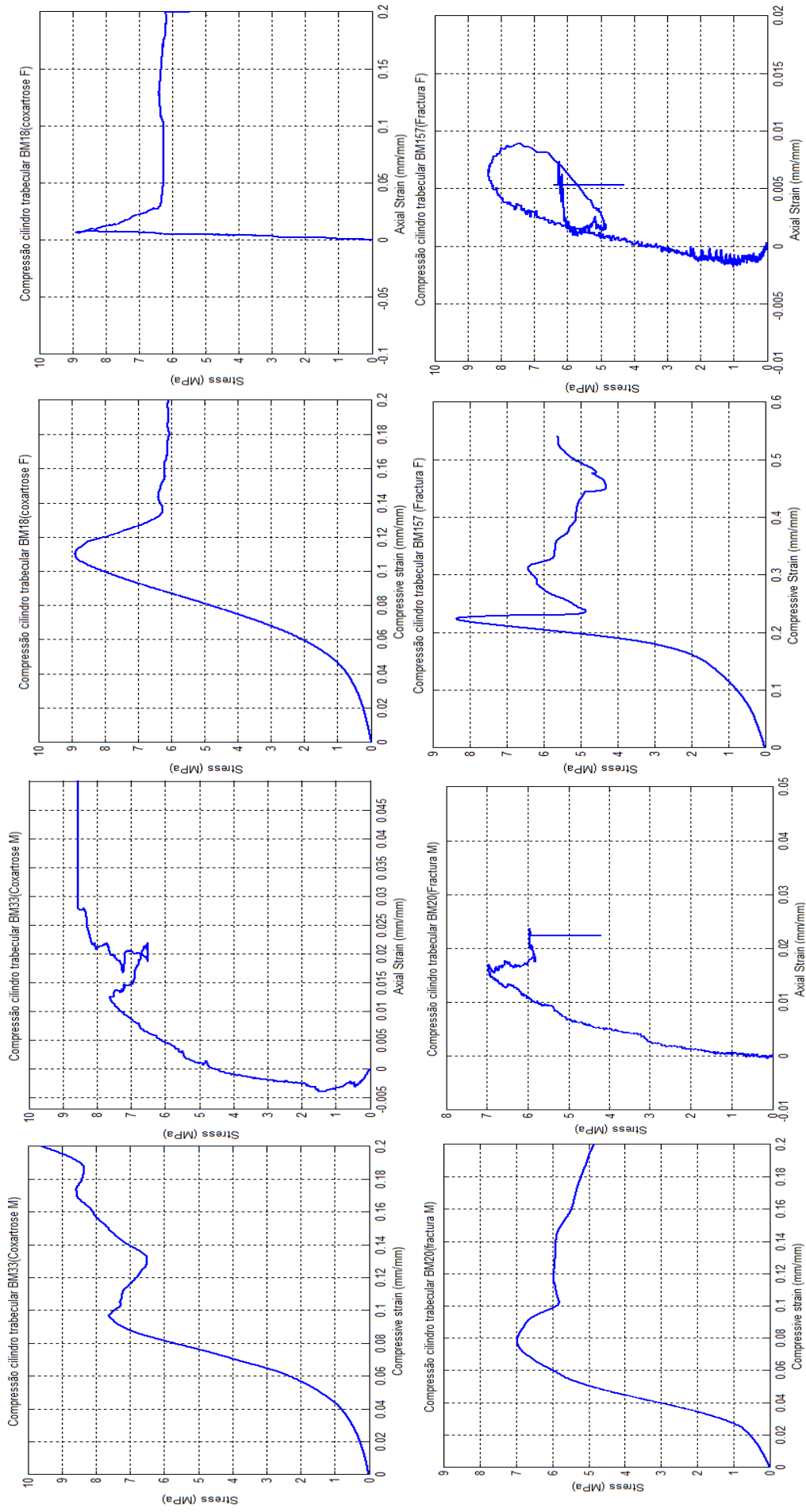


Figura 49. Curvas $\sigma-\epsilon_{\text{videco}}$ e $\sigma-\epsilon_{\text{travessão}}$ obtidas para a compressão de 4 cilindros provenientes de cada um dos grupos considerados (*axial strain* equivale a ϵ_{videco} e *compressive strain* a $\epsilon_{\text{travessão}}$).

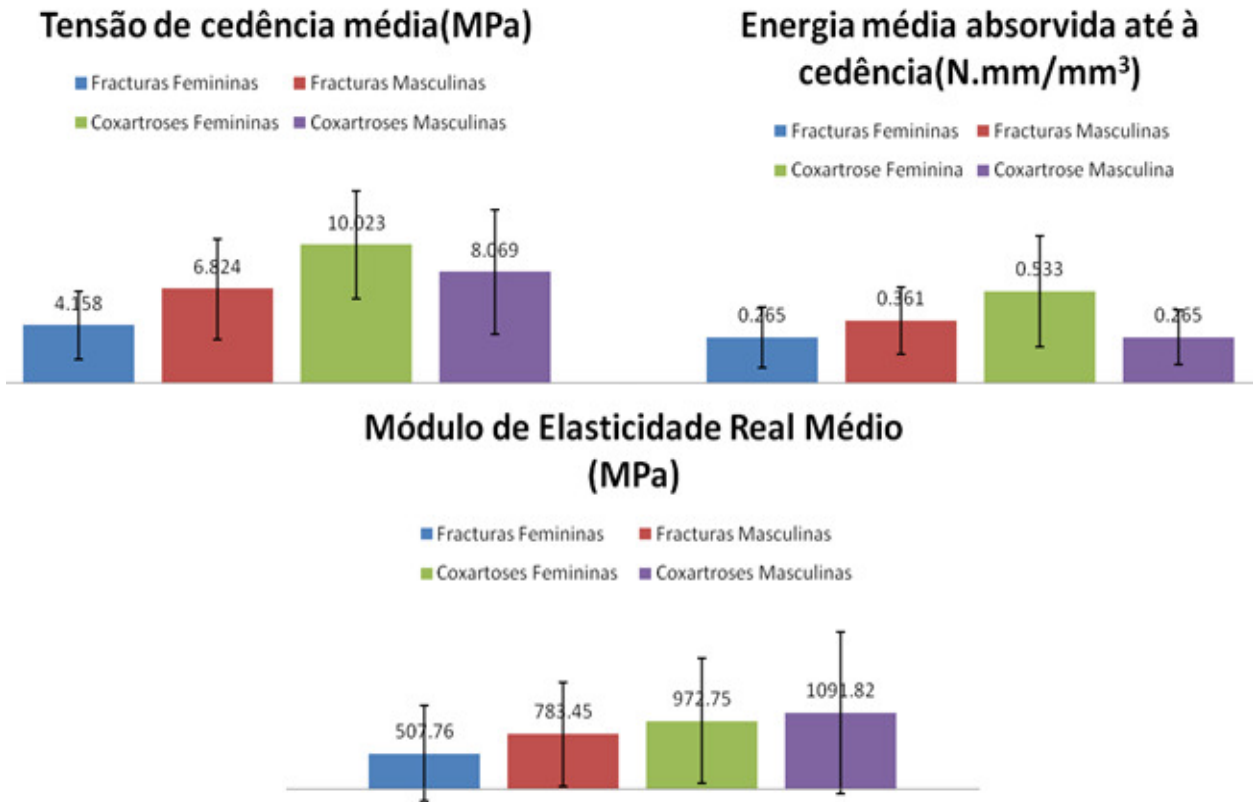


Figura 50. Gráficos de barras com os valores médios determinados para cada um dos parâmetros avaliados e respectivos desvios padrão.

Na figura 51, representa-se para cada grupo, os valores de E_{real} para cada uma das amostra dos 4 grupos.

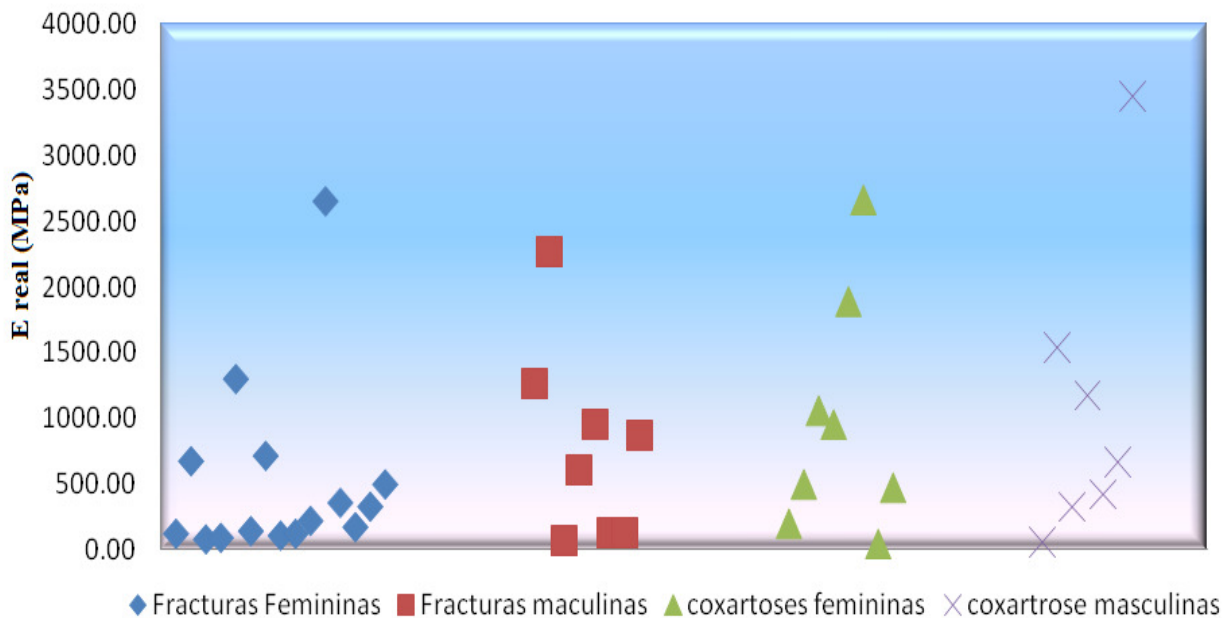


Figura 51. Distribuição dos módulos de elasticidade reais calculados das várias amostras de cada grupo.

Os resultados obtidos mostram, como seria expectável *a priori*, que os dois grupos de fractura do colo do fémur, FF e FM, são no geral as que possuem propriedades mecânicas mais baixas, com excepção para o caso do grupo CM que apresenta uma W_{ced} menor que a do grupo FM e igual à do grupo FF. Em todas as propriedades consideradas, o grupo feminino com fractura do colo do fémur (FF) foi o que exibiu valores mais baixos. Entre os grupos cOA, CF e CM, é o feminino que apresenta valores mais altos, com ressalva do E_{real} cujo valor médio, é maior no caso masculino. Contudo neste parâmetro, a diferença entre os géneros é bastante diminuta ($p\text{-value} = 0.826$). Uma constante em todos os resultados calculados, são os desvios padrão bastante elevados, derivados da grande dispersão de valores dentro de cada grupo, que chegam mesmo a ser maiores que os valores médios determinados, e que limitam a interpretação dos resultados obtidos. A figura 51, expõe esta mesma dispersão para o caso do E_{real} , onde se verificam variações extremas, que por exemplo no caso do grupo CM, se estende desde 60 MPa até cerca de 3450 MPa. Ainda nesta figura, podemos ainda verificar que é no grupo FF, que os valores parecem concentrar-se mais, embora existam algumas amostras que se afastam muito da maioria.

3.3.1. Aplicação do modelo de Gibson e Ashby

Tentou-se comprovar o modelo de Gibson e Ashby apresentado anteriormente, utilizando os valores de densidade medidos para cada uma das amostras testadas e os valores de E_{real} e de σ_{ced} calculados. Assim, e seguindo o mesmo procedimento dos autores, normalizou-se todos os valores dividindo por 2g/cm^3 , 12 GPa e 136 MPa, respectivamente para obter a densidade relativa, ρ/ρ_s , o módulo de elasticidade relativo E_{real}/E_s e para a tensão de cedência relativa σ_{ced}/σ_s , que se consideram como sendo os valores que representam as propriedades estruturais das paredes das trabéculas. Os gráficos de dispersão obtidos, foram linearizados, transformando os eixos segundo uma escala logarítmica de base 10.

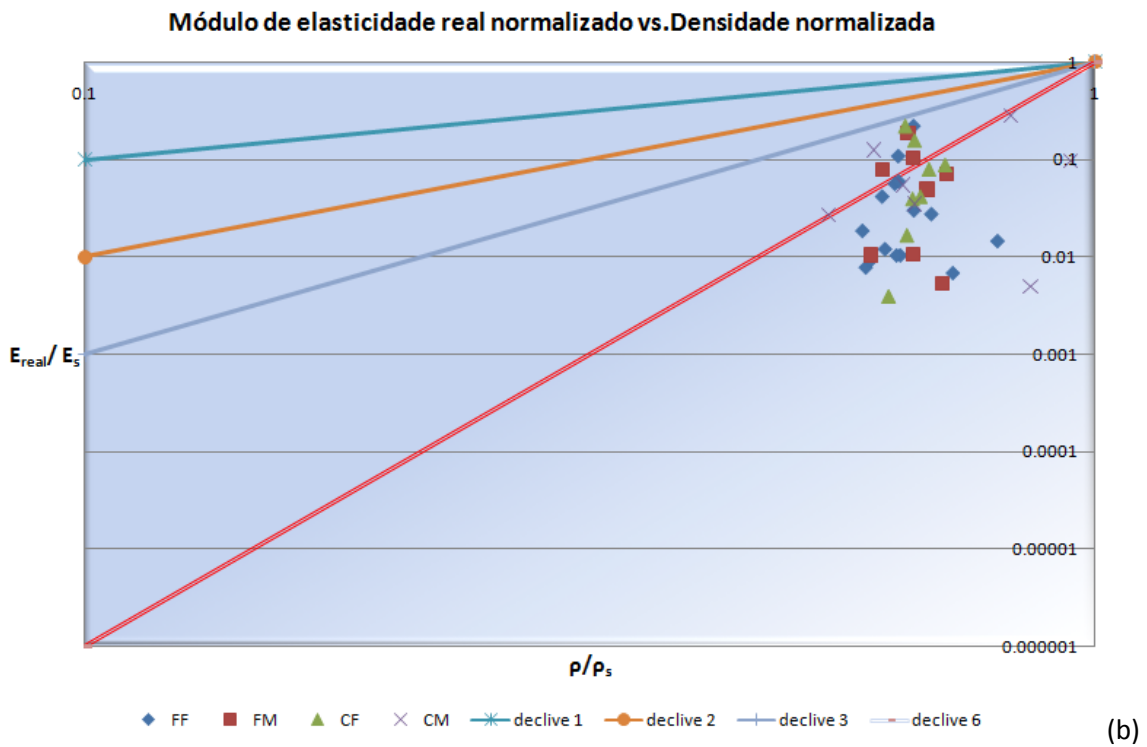
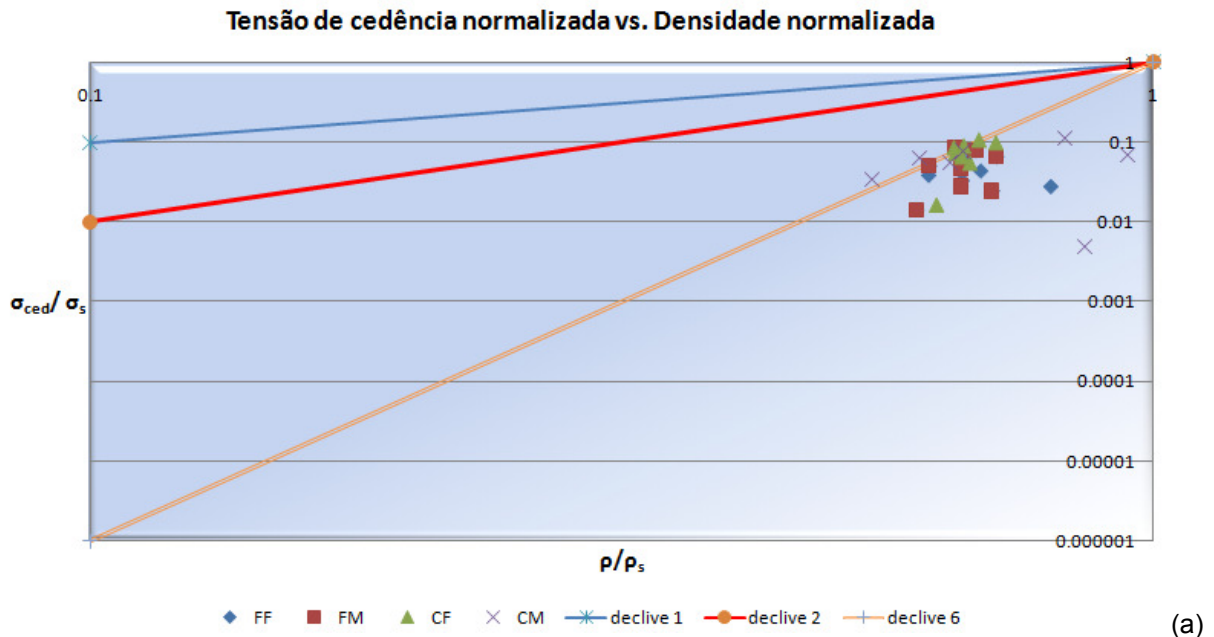


Figura 52. Ajuste logarítmico dos valores experimentais obtidos para compressão dos cilindros de osso trabecular. Em cima,(a), tensão de cedência relativa versus densidade relativa e em baixo,(b), Módulo de Elasticidade relativo versus densidade relativa. Em ambos os casos os valores encontram-se normalizados por valores de módulo de Young ($E/12\text{GPa}$), tensão de cedência ($\sigma/136\text{MPa}$) e densidade ($\rho/2\text{g/cm}^3$), relativos ao osso que forma as paredes das trabéculas.

Para se verificar o modelo de Gibson e Ashby seria necessário que os pontos das várias amostras se encontrassem se um modo geral sobre as linhas de declive 2, isto é, que exista um ajuste quadrático. Tal não se verifica, existindo até uma dispersão de valores bastante considerável, principalmente para o caso do módulo de elasticidade real. Esta dispersão parece ser maior para o caso do grupo das CM. Para a tensão de cedência, o grupo CF apresenta notavelmente uma menor

dispersão, com a maioria das amostras sobre a recta de declive 6, estando todos os pontos muito longe do ajuste quadrático requerido. Para o módulo de elasticidade real, talvez devido à maior dispersão, existem algumas amostras que se aproximam do ajuste cúbico, no entanto a grande maioria encontra-se sobre linhas de ajuste com declive superior a 6.

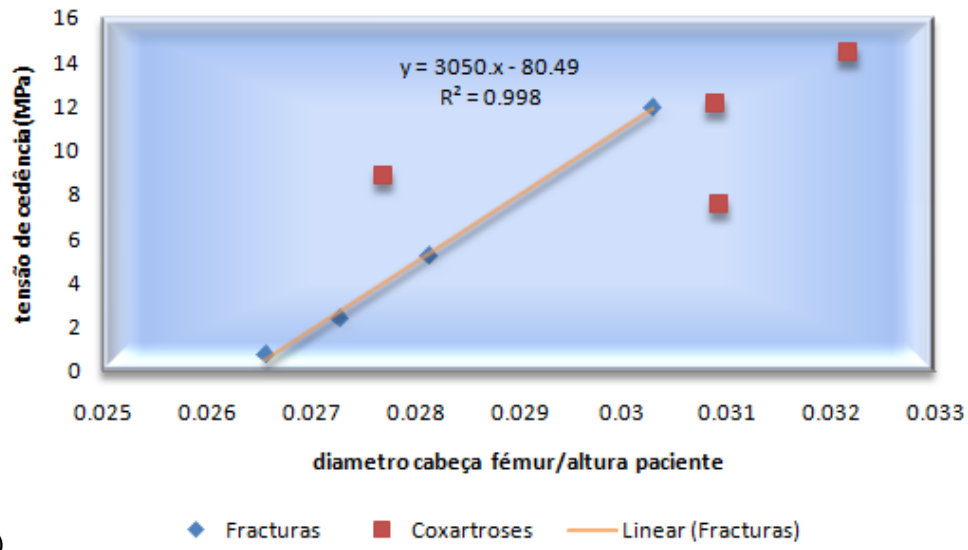
3.3.2. Cruzamento dos resultados dos ensaios de compressão com os dados dos doentes clinicamente avaliados

Das 38 cabeças de fémur utilizadas neste trabalho, apenas 8 provinham de doentes já protocolados clinicamente pelos investigadores médicos (tabela 10), isto é, doentes sobre os quais disponhamos de informação mais detalhadas ao nível das suas características físicas (peso e altura) e a alguns dos seus hábitos alimentares e comportamentais. Devido ao universo limitado, decidiu-se apenas debruçar sobre o peso e altura dos pacientes, e tentar cruzar estes dados com as propriedades mecânicas determinadas nos ensaios de compressão, nomeadamente a tensão de cedência e o módulo de elasticidade. Desta tentativa de cruzamento de dados, resultou uma interessante relação encontrada entre as propriedades mecânicas e o rácio diâmetro da cabeça de fémur/ altura do paciente (dcf/ap), principalmente no caso das fracturas. Como se pode ver na figura 53(a), conseguimos obter um ajuste linear quase perfeito ($r^2=0.998$) com os pontos das amostras de fractura, existindo claramente uma proporcionalidade directa entre a tensão de cedência e o rácio dcf/ap . Para as 4 amostras cOA, esta relação não foi tão evidente, mas contudo parece continuar a existir uma proporcionalidade directa entre a tensão do osso trabecular destes doentes e o diâmetro da sua cabeça de fémur. Novamente para o caso das fracturas, mas para o módulo de elasticidade, efectuando o mesmo procedimento, obteve-se um ajuste linear com um coeficiente de regressão bastante bom ($r^2=0.903$), e mais uma vez parece existir uma proporcionalidade directa entre o módulo de elasticidade real determinado pelos ensaios mecânicos e o rácio dcf/ap . Para as cOA, esta relação não é tão clara, mas ainda assim, há indícios que apontam igualmente para uma proporcionalidade directa entre os dois parâmetros.

Tabela 10. Dados dos doentes protocolados.

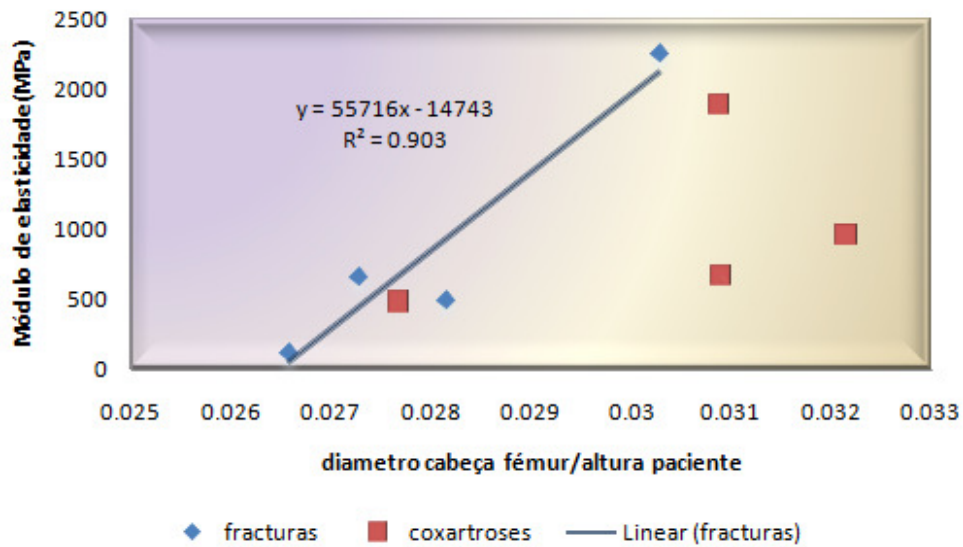
Amostra	Grupo	Altura (cm)	Peso (kg)	E_{real} (MPa)	σ_{ced} (MPa)	Diâmetro cabeça de fémur (cm)
BM13	FF	148	42	124.11	0.77	3.931
BM19	FF	168	80	677	2.440	4.582
BM143	FF	158	52	500	5.300	4.445
BM36	FM	165	50	2270	11.960	4.997
BM18	CF	155	80	474	8.890	4.291
BM21	CF	161	85	1888	12.170	4.973
BM87	CF	154	51	953	14.480	4.953
BM33	CM	163	64	666	7.620	5.038

tensão de cedência vs. dcf/ap



(a)

Módulo de elasticidade vs. dcf/ap



(b)

Figura 53. Relação entre as propriedades mecânicas encontradas para cada amostra e o diâmetro da cabeça de fêmur normalizada pela altura do paciente. Em ambos os casos o ajuste realizado é linear e é relativo apenas às fracturas. (a) Tensão de cedência; (b) Módulo de elasticidade.

3.4. Análise microscópica

Neste trabalho, recorreu-se a duas técnicas de microscopia para visualizar as estruturas das amostras de osso trabecular provenientes das cabeças de fémur, de onde os cilindros para os ensaios mecânicos foram extraídos. As técnicas utilizadas foram a microscopia electrónica de varrimento e a microscopia óptica convencional. Através de SEM, adquiriram-se imagens de amostras não ensaiadas, isto é, amostras que não sofreram compressão e que conservam a estrutura natural do osso trabecular, e amostras ensaiadas, que se obtiveram efectuando um corte transversal no cilindro de osso trabecular depois de este ter sido testado em compressão. Em ambos os casos, observaram-se tanto amostras de doentes com fractura do colo do fémur, como de coxartrose. No caso da microscopia óptica, apenas se observaram amostras de doentes com coxartrose não ensaiadas para aumentar o nº de imagens analisadas, por ter ocorrido uma limitação de acesso à microscopia por SEM durante a elaboração desta tese. Todas as amostras visualizadas foram oriundas de doentes do sexo feminino.

Tabela 11. Número de amostras estudadas e número de imagens analisadas de cada grupo

		Nº de amostras estudadas (SEM/MO)	Nº imagens analisadas (SEM/MO)
Não Ensaiadas	Fractura	5(5/0)	49(49/0)
	Coxartrose	5(2/3)	52(21/31)
Ensaiadas	Fractura	5(5/0)	28(28/0)
	Coxartrose	2(2/0)	8(8/0)
TOTAL		17(14/3)	137(106/31)

3.4.1. Amostras não ensaiadas

Com a observação destas amostras em microscopia pretendia-se essencialmente analisar as diferenças existentes entre a estrutura trabecular do osso de doentes que tivessem sofrido fractura do colo do fémur e a do osso proveniente de doentes com coxartrose. A comparação quantitativa foi feita com base em três parâmetros, determinados utilizando o software de análise de imagem *ImageJ*: espessura trabecular, distância entre trabéculas e fracção de área visualizada ocupada por trabéculas, isto é, a percentagem da imagem adquirida que é preenchida por osso trabecular. As figuras 54, 55 e 56, mostram as imagens de menor ampliação obtida para cada uma das amostras seleccionadas, pertencendo as da figura 54 a amostras provenientes de doentes com fractura do colo do fémur e as da figura 55 e 56 a amostras de doentes com coxartrose.

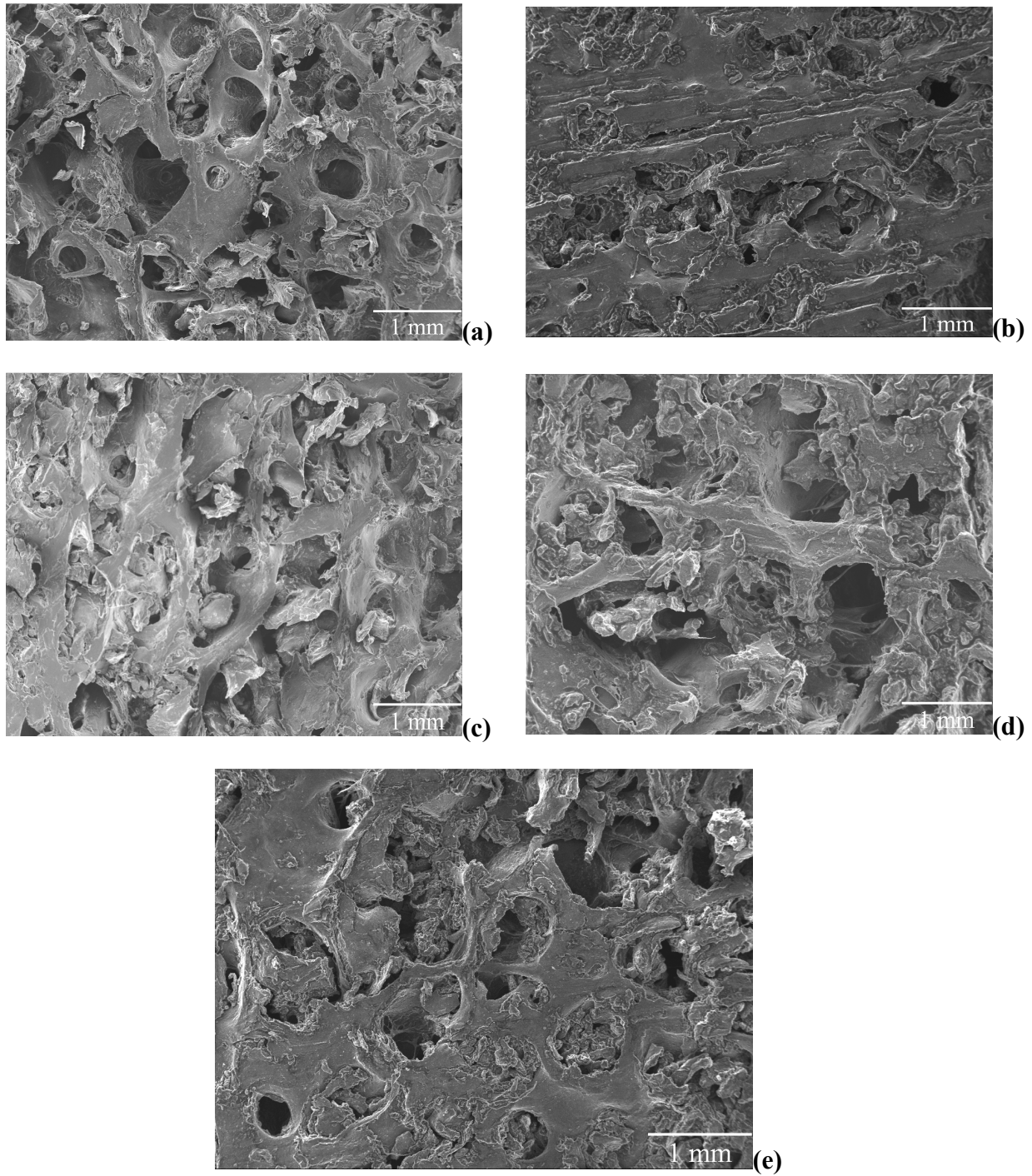


Figura 54. Imagens de osso trabecular de indivíduos do sexo feminino com fractura do colo do fêmur obtidas através de SEM com uma ampliação de 20x. (a) Bm11, (b) BM13, (c) BM14, (d) BM32, (e) BM131.

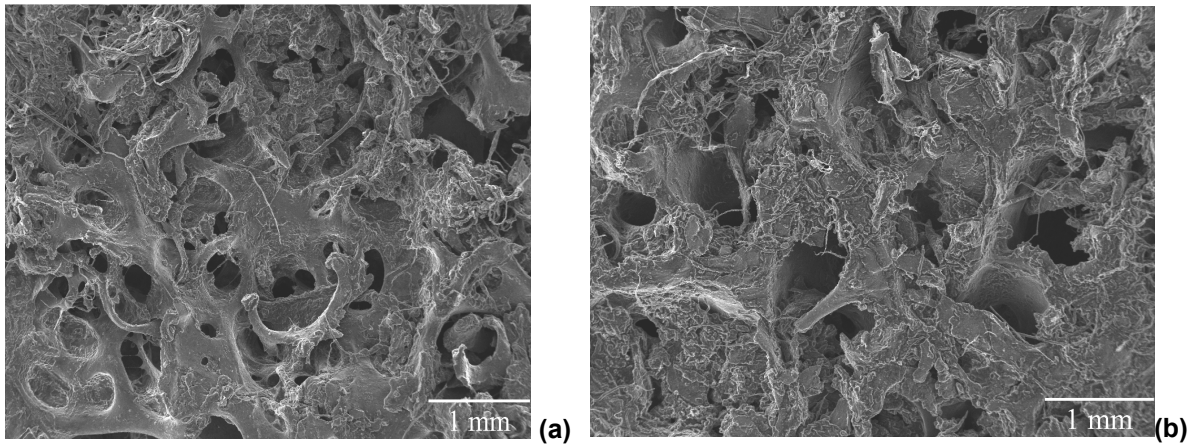


Figura 55. Imagens de osso trabecular de indivíduos do sexo feminino com coxartrose obtidas através de SEM com uma ampliação de 20x. (a) BM34, (b) BM106

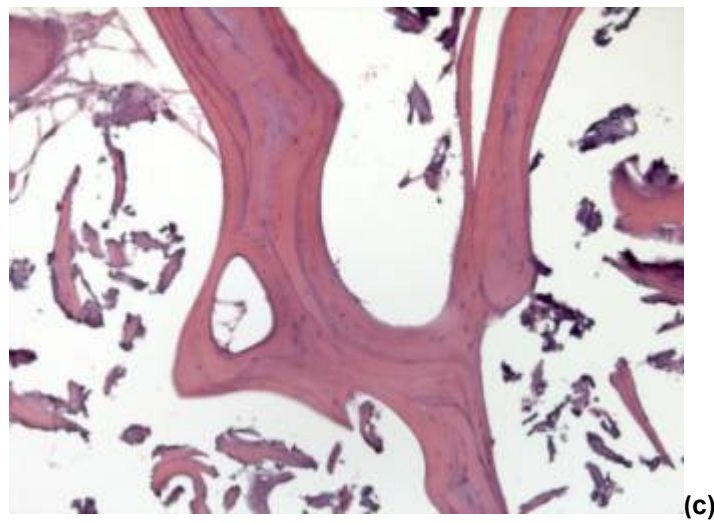
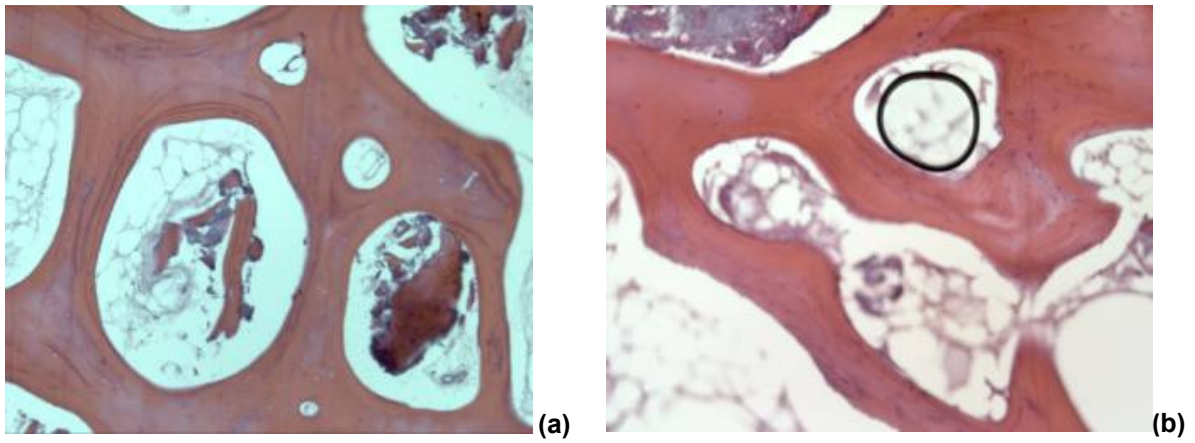


Figura 56. Imagens de osso trabecular de indivíduos do sexo feminino com coxartrose obtidas através de MO com uma ampliação de 10x. (a) BM18, (b) BM73, (c) BM74.

Na figura 57, podemos contemplar detalhes das estruturas em forma de placa, com perfurações circulares, tal como o modelo de Gibson e Ashby sugere.

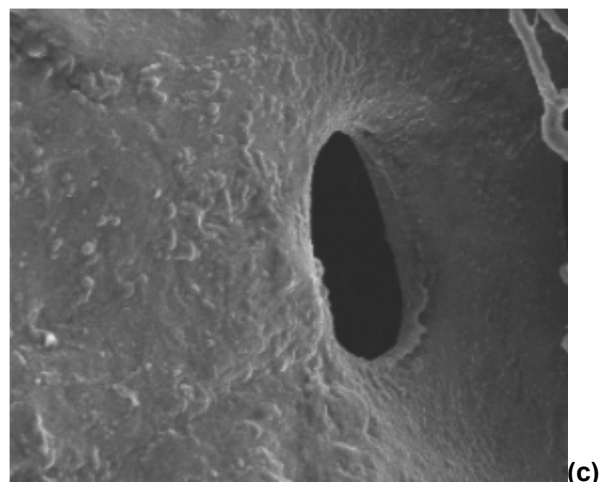
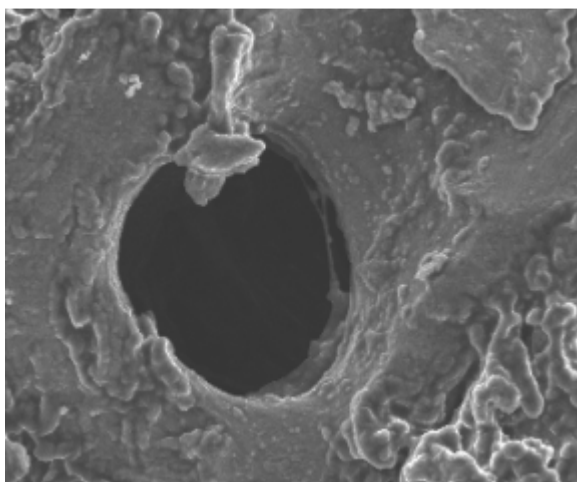
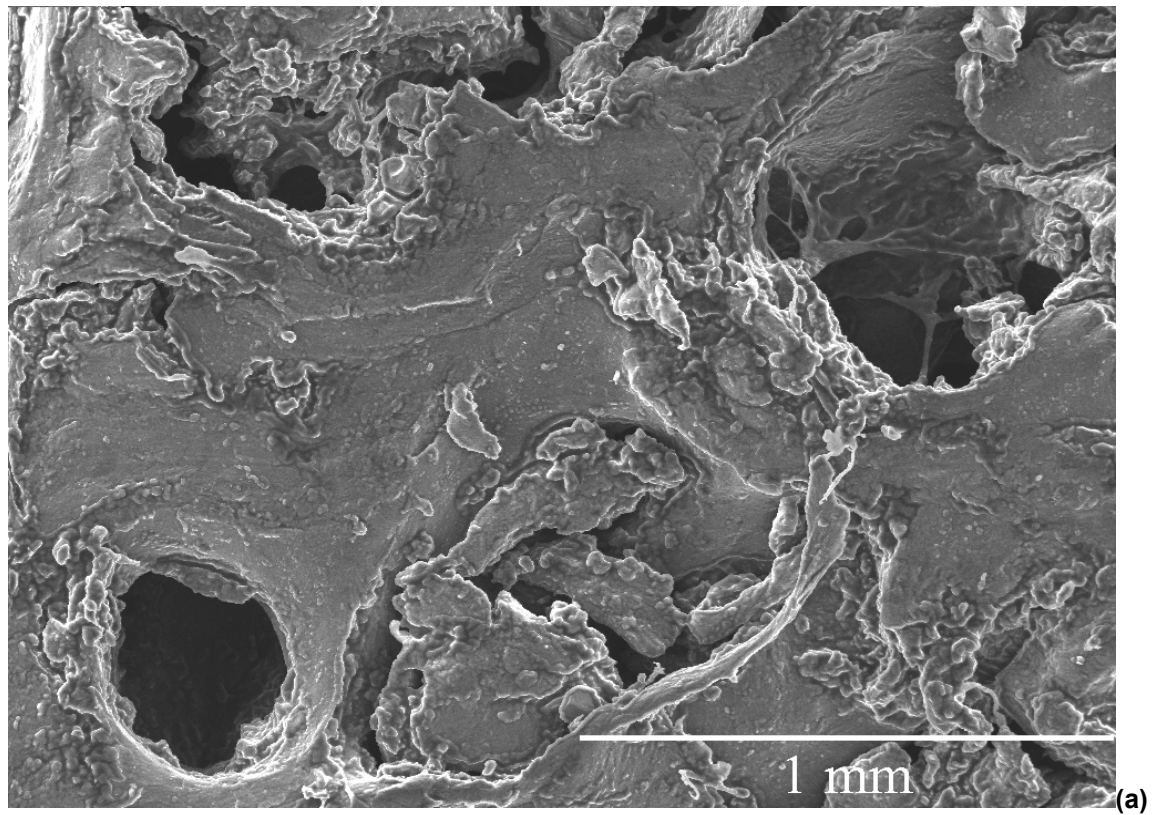


Figura 57. Estrutura trabecular com placas perfuradas. (a) Imagem SEM da amostra BM131 (OP), ampliação 50x, (b) detalhe de uma imagem SEM da amostra 131 (OP), ampliação 50x, (c) detalhe de uma imagem SEM da amostra 106 (cOA), ampliação 50x.

A presença de estruturas em forma de hastes conectadas entre si, é facilmente detectada. A ligação entre as hastes é feita essencialmente por locais em que se ligam 3 ou 4 hastes, que criam uma rede com espaços vazios no interior – uma estrutura celular.

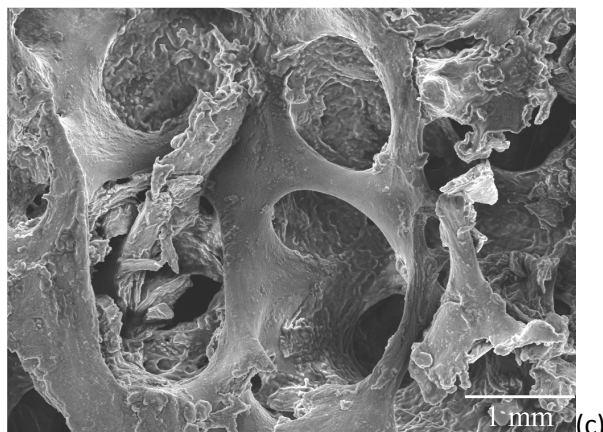
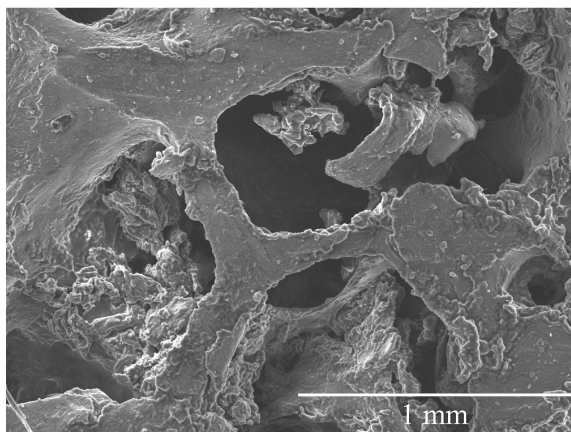
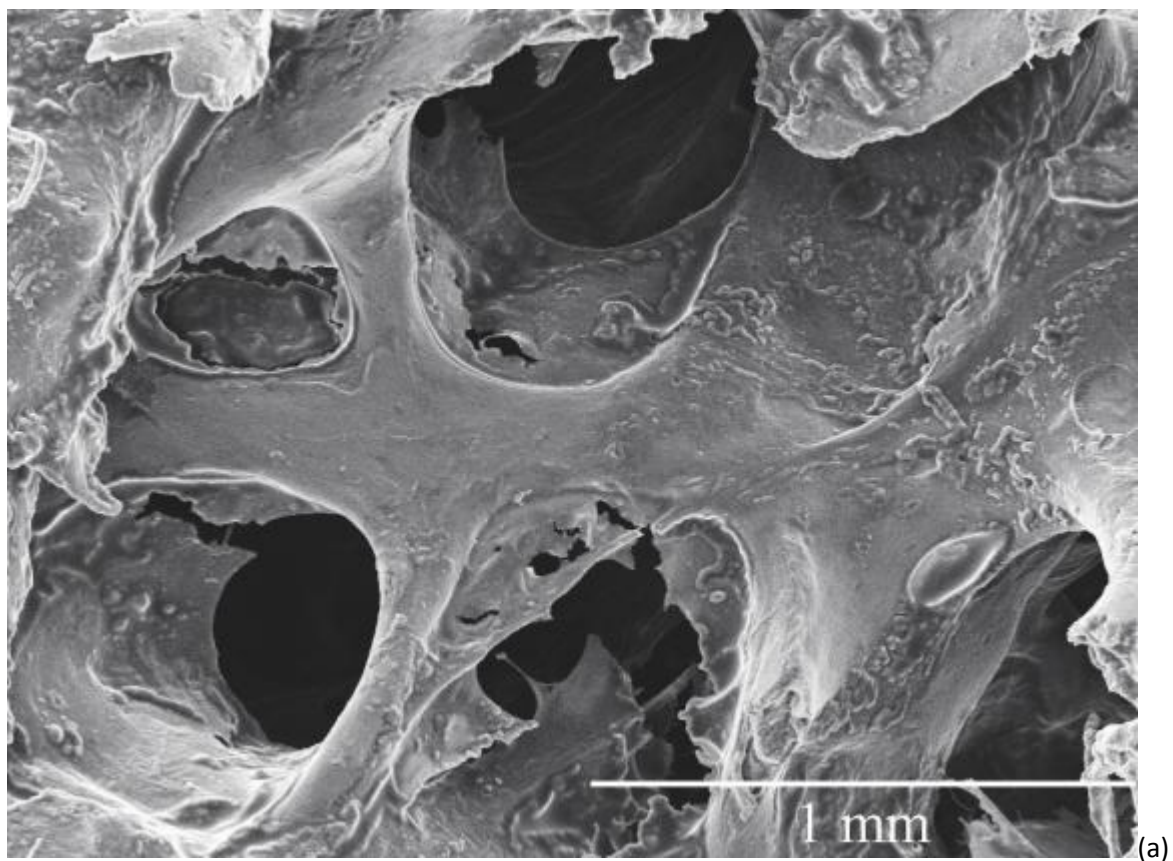


Figura 58. Estrutura trabecular constituída por hastes conectadas entre si, criando uma estrutura celular. (a) Imagem SEM da amostra BM32 (OP), ampliação 50x, (b) Imagem SEM da amostra BM131 (OP), ampliação 50x, (c) Imagem SEM da amostra BM11 (OP), ampliação 50x.

As diversas imagens obtidas, permitiram a medida dos três parâmetros considerados relevantes e já mencionados. Na tabela 12, encontram-se sintetizadas os resultados obtidos para cada uma das amostras estudadas, e os resultados médios de cada um dos grupos.

Tabela 12. Idade e propriedades relevantes determinadas para cada uma das amostras, e valores médios para os grupos com fractura do colo do fémur e com coxartrose.

Grupo da amostra	Designação da amostra (tipo de)	Idade (anos)	Espessura trabecular média (mm)	Distância média entre trabéculas(mm)	Fracção média de área ocupada (%)
Fractura	BM11 (SEM)	83	0.306 ±0.155	0.771±0.363	71.03±5.07
	BM13 (SEM)	73	0.143±0.04	0.438±0.159	79.92±5.39
	BM14 (SEM)	85	0.154±0.047	0.497±0.11	67.16±8.2
	BM32 (SEM)	90	0.191±0.093	0.588±0.133	71.34±9.51
	BM131 (SEM)	83	0.148±0.047	0.512±0.118	83.54±3.32
Coxartrose	BM 18 (MO)	66	0.171±0.059	0.426±0.171	-
	BM34 (SEM)	41	0.154±0.052	0.526±0.280	73.86±6.46
	BM73 (MO)	40	0.181±0.056	0.487±0.259	-
	BM74 (MO)	59	0.161±0.065	0.268±0.164	-
	BM106 (SEM)	60	0.173±0.048	0.571±0.270	73.6±7.52
Valores médios					
	Fractura	82.8±6.2	0.2177±0.128	0.631±0.292	74.61±8.92
	Coxartrose	53.2±11.9	0.158±0.051	0.536±0.271	73.73±6.74
	p-value	0.03*	0.004**	0 **	0.650*

* teste t-student

**teste Mann-whitney

O grupo de doentes com fractura do colo do fémur apresenta uma distância entre trabéculas maior do que o grupo com coxartrose, de acordo com o expectável. No entanto, a espessura média das trabéculas é maior no grupo com fractura do colo do fémur

3.4.2. Amostras ensaiadas

Com a utilização de amostras provenientes dos cilindros ensaiados em compressão, em microscopia, pretendia-se essencialmente compreender os mecanismos de fractura do osso trabecular, em doentes com fractura do colo do fémur prévia e em osso proveniente de doentes com osteoartrose. Nas figuras 59 e 60 apresentam-se imagens SEM de amostras de doentes de um e do outro grupo.

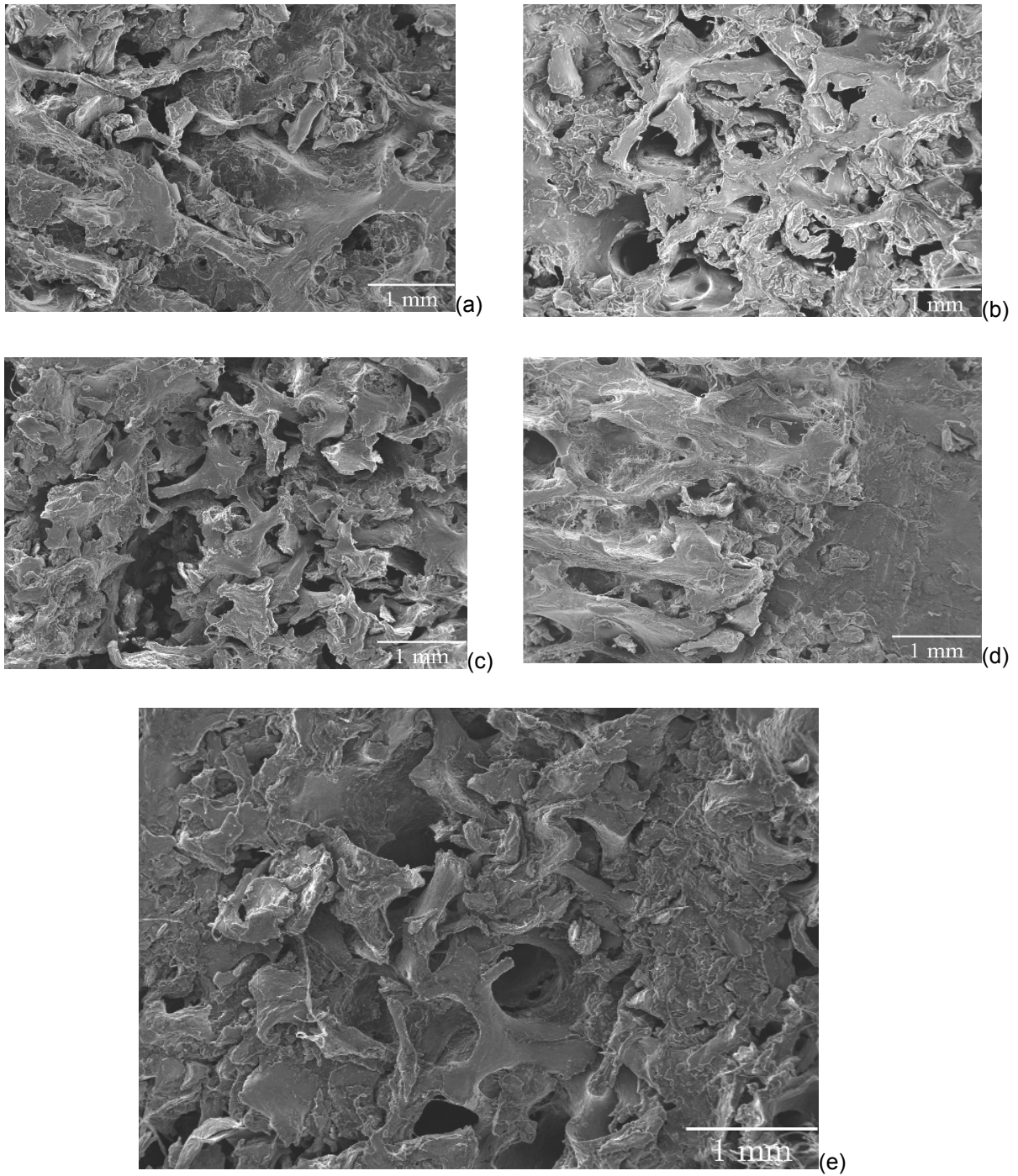


Figura 59. Imagens SEM de amostras de osso trabecular de doentes que sofreram fractura, depois de ensaiadas em compressão, com uma ampliação de 20x. (a) BM13, (b) BM14, (c) BM53, (d) BM131, (e) BM149.

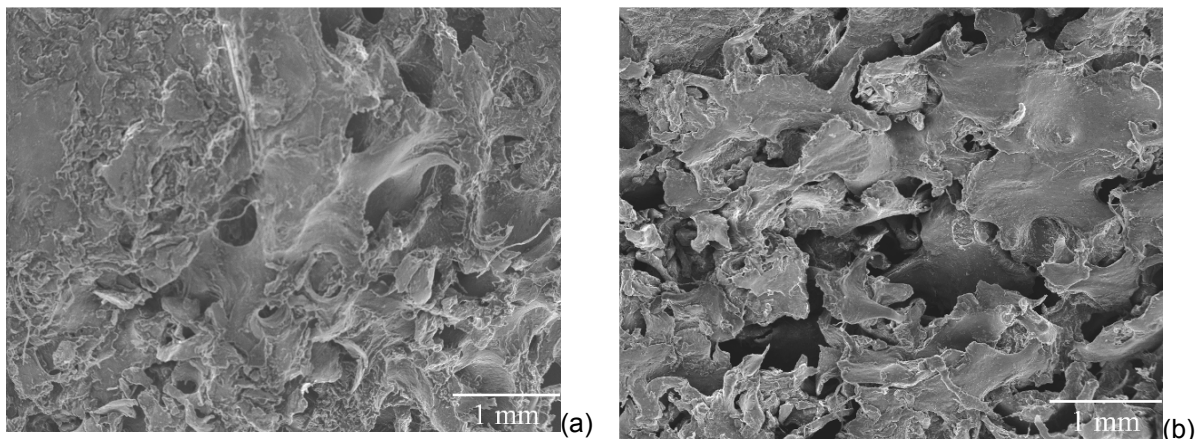
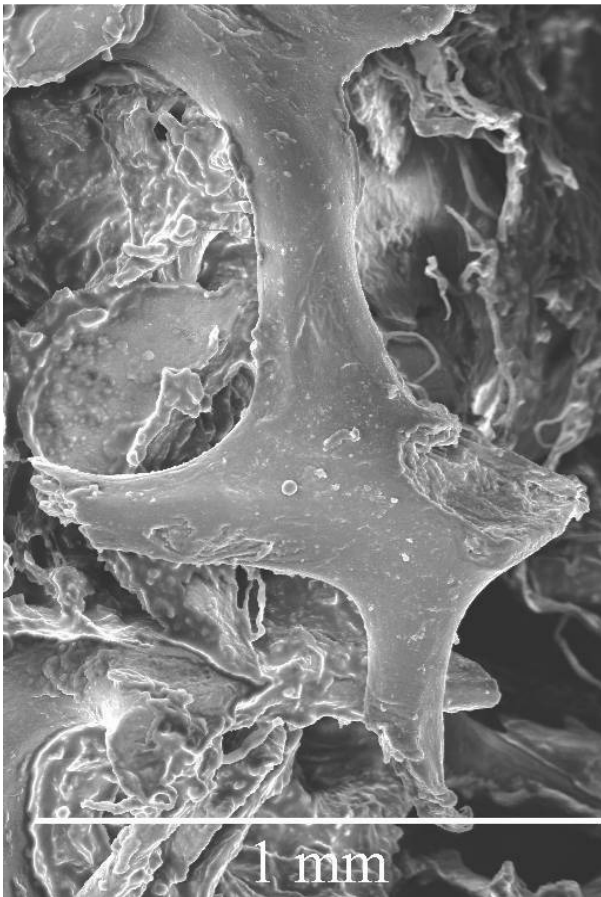


Figura 60. Imagens SEM de amostras de osso trabecular, de doentes com coxartrose, depois de ensaiadas em compressão com uma ampliação de 20x. (a) BM34, (b) BM106.

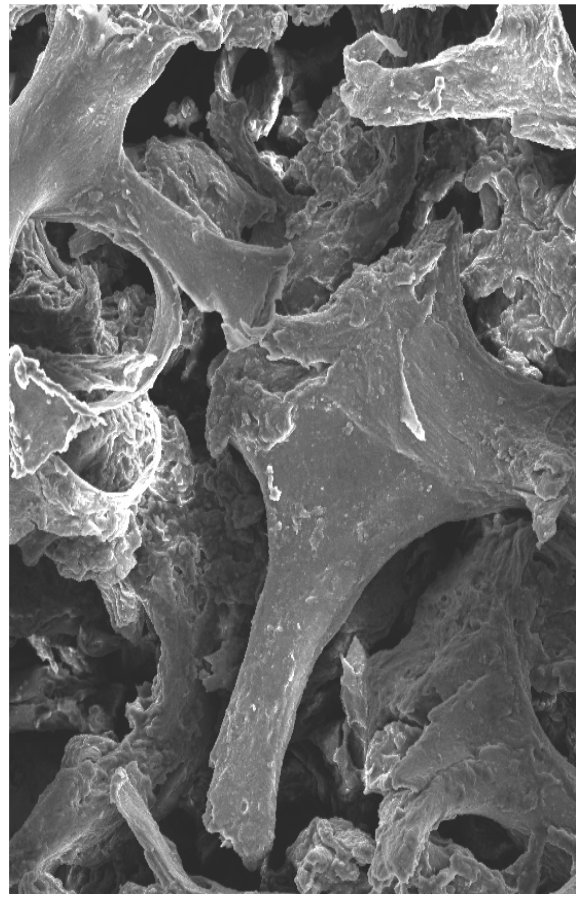
Como seria de esperar, se compararmos as figuras 54 e 55 (amostras não ensaiadas) com as figuras 59 e 60 (amostras ensaiadas), verifica-se um aumento das trabéculas/hastes fracturadas. Ao analisar as figuras acima apresentadas, podemos verificar que parece existir diferentes graus de dano na estrutura trabecular nas diversas amostras. Todavia, tal poderá não estar relacionado com as propriedades mecânicas da estrutura trabecular, visto a duração do ensaio de compressão ter variado de cilindro para cilindro, ou seja, existiram cilindros que foram ensaiados apenas o bastante para que ocorresse cedência, e outros em que o ensaio foi mais prolongado, pelo que será sempre arriscado estabelecer comparações entre amostras e entre grupos.

É observável desde já, em várias das amostras, a existência de fracturas nas hastes da estrutura trabecular. Os locais onde as fracturas das hastes ocorrem não parecem ser constantes, verificando-se que em alguns casos ocorre mais próximo do local de interligação como se pode ver na figura 61 (a), e noutros a quebra parece ocorrer numa zona mais central da haste (figura 61 (b)). Verifica-se que a fractura da haste origina uma superfície bastante irregular, tal como se pode melhor observar na figura 61 (c) em baixo. Ainda na figura 61(a), que se centra num ponto de união entre três hastes, nota-se que apenas duas delas estão fracturadas, sendo a única intacta, a que tem maior espessura.

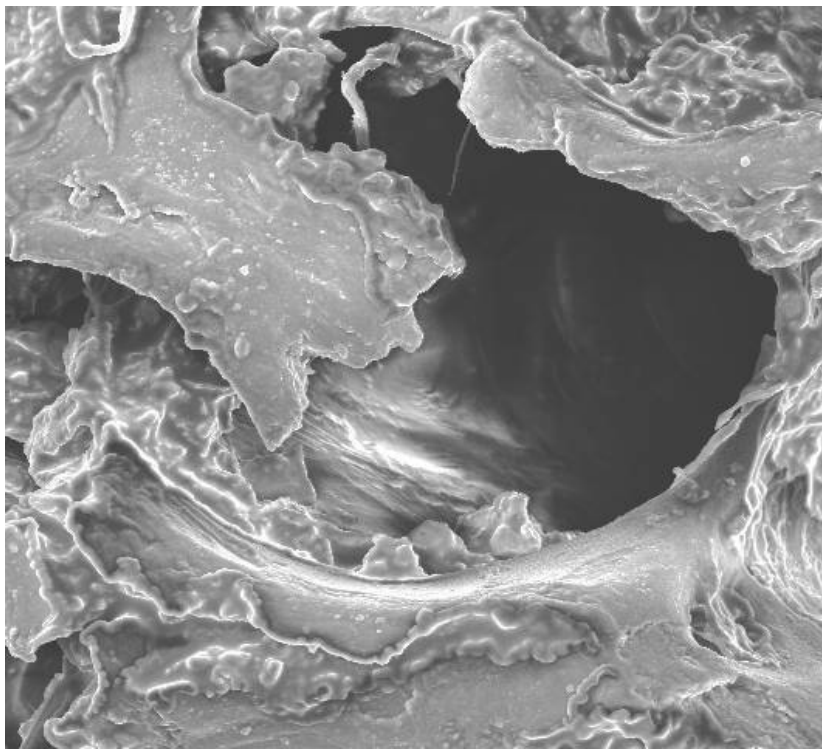
Foi difícil encontrar exemplos de placas danificadas, sem que estas estivessem completamente esmagadas, contudo exemplos podem ser contemplados nas figuras 61 (a) e (B), onde podemos ver, a existência de fragmentos irregulares de osso trabecular, resultantes da fractura das placas, com extremidades também elas bastante irregulares, como já se tinha verificado no caso das hastes. Na figura 62(a) é possível descortinar a presença de pequenas fissuras, estando uma delas ampliadas na figura 62 (c). Na figura 62 (b), na parte superior pode ver-se uma placa perfurada fragmentada precisamente no local da perfuração.



(a)



(b)



(c)

Figura 61. Pormenor de Imagens SEM do local de fractura de hastes trabeculares. (a) e (c) amostra BM14(OP), ampliação 50x, (b) amostra BM53(OP), ampliação 50x.

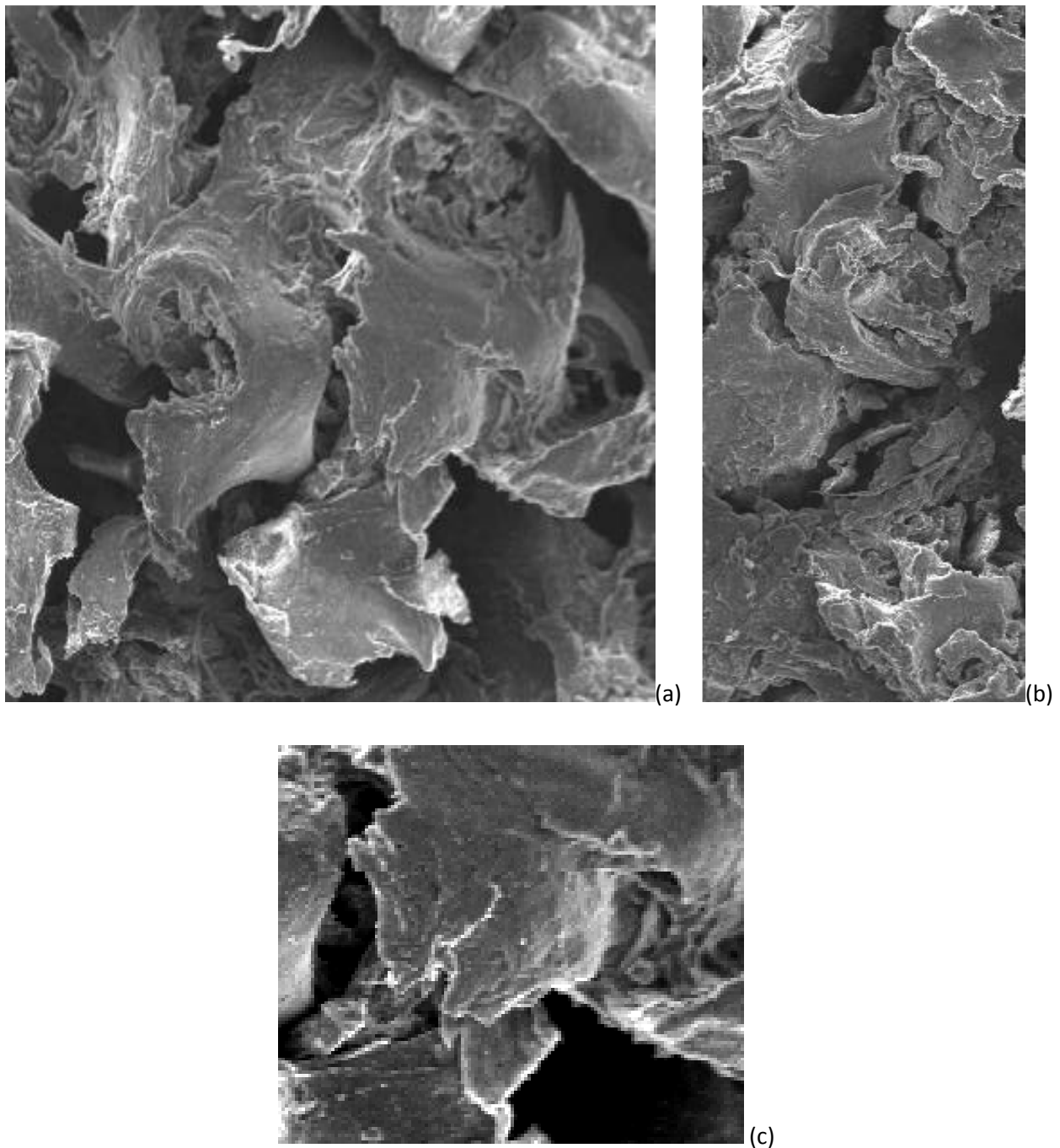


Figura 62. (a) e (b) Pormenor de Imagens SEM com ampliação de 50x da amostra BM53(OP), onde podemos ver placas de osso trabecular danificadas pela solicitação mecânica sofrida ,(c) ampliação da figura (a) destacando uma fissura numa placa trabecular.

Em algumas imagens adquiridas foi possível constatar zonas em que era clara a existência de hastes fragmentadas, mas em que as placas se mantinham praticamente intactas. Isto é bem perceptível na figura 63(b), na qual se distinguem hastes trabeculares partidas, mas em cima podemos observar uma placa perfurada aparentemente sem dano significativo.

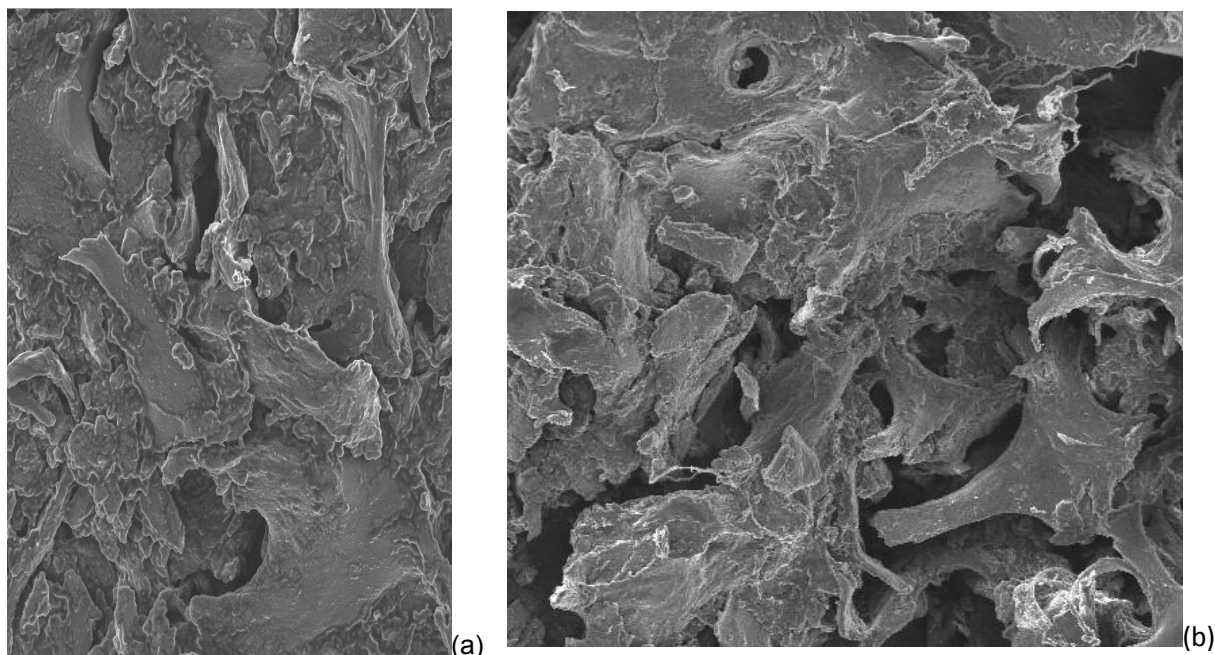


Figura 63. Imagens SEM com ampliação de 50x onde se pode observar hastas trabeculares fracturadas, e placas aparentemente sem dano. (a) amostra BM149 (OP), (b) amostra BM53(OP).

4. Discussão dos resultados

4.1. Análise do efeito das variações das dimensões das amostras em ensaios de compressão.

Os resultados que se obtiveram com os ensaios em cilindros de espumas de poliuretano fornecidos pela empresa Sawbones, tiveram como principal intuito compreender como as variações das dimensões de cilindros constituídos de um material estruturalmente com semelhanças ao osso trabecular, podiam influenciar os resultados dos testes de compressão a realizar posteriormente nos cilindros de osso trabecular extraídos das cabeças de fémur. Não se podendo dizer que os resultados são irrefutáveis, devido ao baixo número de amostras ensaiadas, existem contudo evidencias que apontam para uma influência reduzida do rácio h/d pelo menos nos casos em que o diâmetro do cilindro é constante. Deste modo, utilizando sempre o mesmo diâmetro, variações de altura não deverão induzir variações de resultados demasiado significativas, pelo mesmo no que diz respeito à tensão de cedência e ao módulo de elasticidade. A energia absorvida até à cedência será uma propriedade mais susceptível a variações de dimensões e a outros factores, até porque por definição, este parâmetro está directamente do módulo de elasticidade e da tensão de cedência, e consequentemente dos erros que estes poderão apresentar. Assim pequenos erros na tensão de cedência e no módulo de elasticidade, poderão ser multiplicados no cálculo da energia absorvida até á cedência, tornando-a uma propriedade mecânica com a qual teremos um menor grau de confiança e até algum cuidado com as conclusões que se poderão obter a partir desta. Este resultado não será propriamente inesperado, tendo em conta que num ensaio de compressão a um espécime cilíndrico, o contacto que existe entre o dispositivo de compressão e a amostra, é feito através da base do cilindro, sendo por isso normal que variações nas dimensões e na forma desta mesma base,

influenciem mais os resultados do que a altura do dito cilindro. Este parâmetro determina de forma mais relevante como as tensões fornecidas são transferidas e distribuídas para o cilindro e para a estrutura da espuma.

Verificou-se ainda poder existir uma relação óptima entre o diâmetro do cilindro e do dispositivo de compressão móvel que vai comprimir a amostra, o que não será uma situação de estranhar pelo que já se disse anteriormente, isto é, pela forma como ocorre a transferência e distribuição das tensões aplicadas pelo dispositivo de compressão ao provete em ensaio.

Tendo em conta que seria impossível utilizar cilindros de osso trabecular todos com a mesma altura, estes resultados fornecem alguma segurança para os valores obtidos nos ensaios nestes realizados, permitindo que a nossa atenção se focasse mais na obtenção de cilindros com bases o mais planas e paralelas possíveis. Há ainda a ressaltar o facto de estarmos a transpor resultados obtidos em material sintéticos, para um material biológico, o que acarreta sempre alguns riscos.

4.2. Determinação do factor para a correcção da complacência da máquina de ensaios mecânicos.

A complacência da máquina de ensaios mecânicos é um problema bastante importante em extensometria, que impede a utilização do deslocamento do travessão que comprime a amostra em ensaio e que acompanha a sua deformação, na determinação do seu módulo de elasticidade, visto este módulo estar comprometido pela rigidez intrínseca da máquina. Na prática isto significa que uma mesma amostra de material, ensaiada em diferentes máquinas de ensaios mecânicos com diferentes complacências e conseqüentemente com diferentes rigidezes, apresentará diferentes módulos de elasticidade. A utilização de um vídeo-extensómetro, apesar de fornecer resultados reais do módulo de elasticidade da amostra em estudo, não se revelou uma opção completamente fiável para o tipo de material em estudo. A estrutura celular não homogénea, torna o comportamento à compressão bastante irregular o que se reflecte nas curvas σ - ϵ obtidas utilizando a deformação medida por este instrumento. Tal dificulta a determinação do módulo de elasticidade por análise gráfica e muitas vezes até impossibilita este acto. Torna-se por isso fundamental, neste tipo de material, possuir uma solução de recurso, nomeadamente a determinação de uma relação passível de ser utilizada entre o módulo de elasticidade calculado com base no deslocamento do travessão e o mesmo módulo determinado com base nas medições do vídeo-extensómetro.

A constante de proporcionalidade, m , determinada e utilizada para corrigir os valores de $E_{\text{travessão}}$, parece-nos ter fiabilidade suficiente para fornecer resultados confiáveis, embora sempre com algum erro, que por não se ter forma de determinar, se assume como desprezável.

É de realçar ainda que esta constante não deve ser transposta para outros materiais, visto esta não se poder aplicar a outros tipos de estrutura e até para provetes do mesmo material mas de diferentes geometrias e diferentes dimensões, visto não ser certo que a relação de proporcionalidade entre os módulos de elasticidade real e do travessão se mantenha.

4.3. Ensaio de compressão

Quando se analisa as características das cabeças de fémur donde foram extraídos os cilindros de osso trabecular ensaiados, destaca-se desde logo o facto de o diâmetro das cabeças de fémur do grupo CF ser consideravelmente maior do que o do grupo FF, estando bastante mais próxima das dimensões dos dois grupos masculinos, cujas dimensões são bastante semelhantes entre si. Este facto pode sugerir que mulheres com cabeças de fémur dimensionalmente mais reduzidas, poderão estar mais susceptíveis à fractura, e pelo contrário, mulheres com cabeças de fémur maiores poderão estar mais protegidas contra esta ocorrência. No entanto, esta comparação foi realizada com epífises de doentes com coxartrose, que foram associadas a um maior diâmetro epifisário determinado radiologicamente, pelo menos num trabalho recentemente publicado [42]. Por outro lado, a avaliação do diâmetro da epífise femoral não tem sido estudado frequentemente como potencial factor de risco para a ocorrência de fractura, no entanto, em pelo menos 2 trabalhos diferentes, caracterizando o diâmetro radiológico da cabeça femoral em populações asiáticas e caucasianas não foi encontrada qualquer associação com a probabilidade de fractura [43,44]. A observação efectuada neste estudo deverá ser consubstanciada futuramente com epífises femorais de controlo, sem patologia da coxo-femoral, obtidos em cadáveres. Os dois grupos de doentes com fractura do colo do fémur apresentavam uma espessura cortical da epífise femoral superior às dos dois grupos com coxartrose. Para além disso a espessura cortical no grupo de mulheres com fractura é maior do que no grupo de homens com fractura, apesar destes últimos terem um maior diâmetro da epífise femoral. Estes resultados são surpreendentes e são difíceis de comparar com a literatura existente porque a avaliação da espessura da cortical tem sido realizada apenas na região do colo do fémur e não na epífise. Neste local anatómico a espessura da cortical é menor nos doentes com fracturas do colo do fémur do que em doentes com osteoartrose [45]. A interpretação da associação de uma menor espessura cortical com piores propriedades biomecânicas também não é linear. Pode-se especular que um córtex mais espesso, poderá criar uma blindagem às tensões existentes *in vivo* e, conseqüentemente, pela lei de Wolf, induzir um menor desenvolvimento da estrutura trabecular. Desta forma, num ensaio de compressão, que claramente dependente desta estrutura trabecular, a performance seria inferior nos casos em que a cortical fosse mais espessa. Ao nível da densidade trabecular, como esperado, esta é menor ao nível dos dois grupos da fractura, sendo dentro destes dois, menor no grupo feminino. Nas coxartroses, as masculinas são as que apresentam a maior densidade. Este padrão está de acordo com o reportado num trabalho recente de avaliação densitométrica [22]. Em relação às propriedades mecânicas determinadas, são desde logo assinaláveis os grandes desvios padrão associados às médias de cada grupo, o que reflecte a enorme variabilidade inerente às amostras biológicas. Contudo, e apesar da grande variabilidade existente dentro de cada grupo, é possível verificar que entre os dois grupos de fracturas, é o feminino que apresenta valores mais baixos de resistência mecânica (σ_{ced}) e rigidez (módulo de elasticidade). Estes resultados estão de acordo com o facto de as mulheres terem maior probabilidade de desenvolverem osteoporose e de sofrerem fracturas. Contudo, curiosamente, dos dois grupos com coxartrose, é o grupo masculino que apresenta, no geral, as propriedades

mecânicas mais baixas, excepto no caso do módulo de elasticidade que tem a ressalva de possuir desvios padrão muito elevados. Comparando os doentes com coxartrose e fracturas do colo do fémur verifica-se que globalmente as propriedades mecânicas são piores, quer para as mulheres, quer para os homens, que sofreram fracturas. Este facto está de acordo com o eventual papel da coxartrose como factor protector contra fracturas do colo do fémur [45]. No entanto, estas diferenças podem ser também explicáveis pelas diferenças na idade média dos dois grupos, a qual é significativamente inferior no grupo de doente com coxartrose [46]. É também interessante reflectir sobre a possibilidade da maior rigidez do osso dos doentes com coxartrose, poder contribuir para um maior desgaste da cartilagem existente entre a cabeça do fémur e o acetábulo, contribuindo para o mecanismo de agravamento da osteoartrose. Por fim salienta-se que a densidade do osso osteoporótico e com coxartrose não é significativamente diferente, sugerindo claramente que as diferentes propriedades mecânicas não deverão ser interpretadas como uma consequência de uma diminuição quantitativa do osso osteoporótico, mas sim como consequência de uma diferença qualitativa.

4.3.1. Aplicação do modelo de Gibson e Ashby

A tentativa de aplicação do modelo de Gibson e Ashby às amostras em estudo não foi conseguida. Tanto para o caso do módulo de elasticidade real, como para o caso da tensão de cedência, os ajustes aos pontos adquiridos não foi o sugerido pelo modelo, tendo sido o afastamento muito considerável. A razão mais imediata para esta ocorrência, reside no acto de as amostras neste estudo serem patológicas, ao contrário das utilizadas pelos autores deste método, o que poderá ter provocado a alteração dos parâmetros por estes utilizados. Assim, se em vez de se utilizar a constante C_1 como sendo igual à unidade, o que representa uma situação ideal, em que a geometria das células é perfeitamente cúbica, o que é extremamente abusivo, até pelas imagens SEM exibidas anteriormente, pode utilizar-se um valor diferente, que traduz uma situação em que a arquitectura das células se encontra deteriorada. Escolhendo um $C_1=0.1$, que representa um afastamento ao modelo ideal muito considerável, e substituindo a componente quadrática na equação (3) por uma cúbica, verificamos que o ajuste efectuado é bastante aceitável (figura 64).

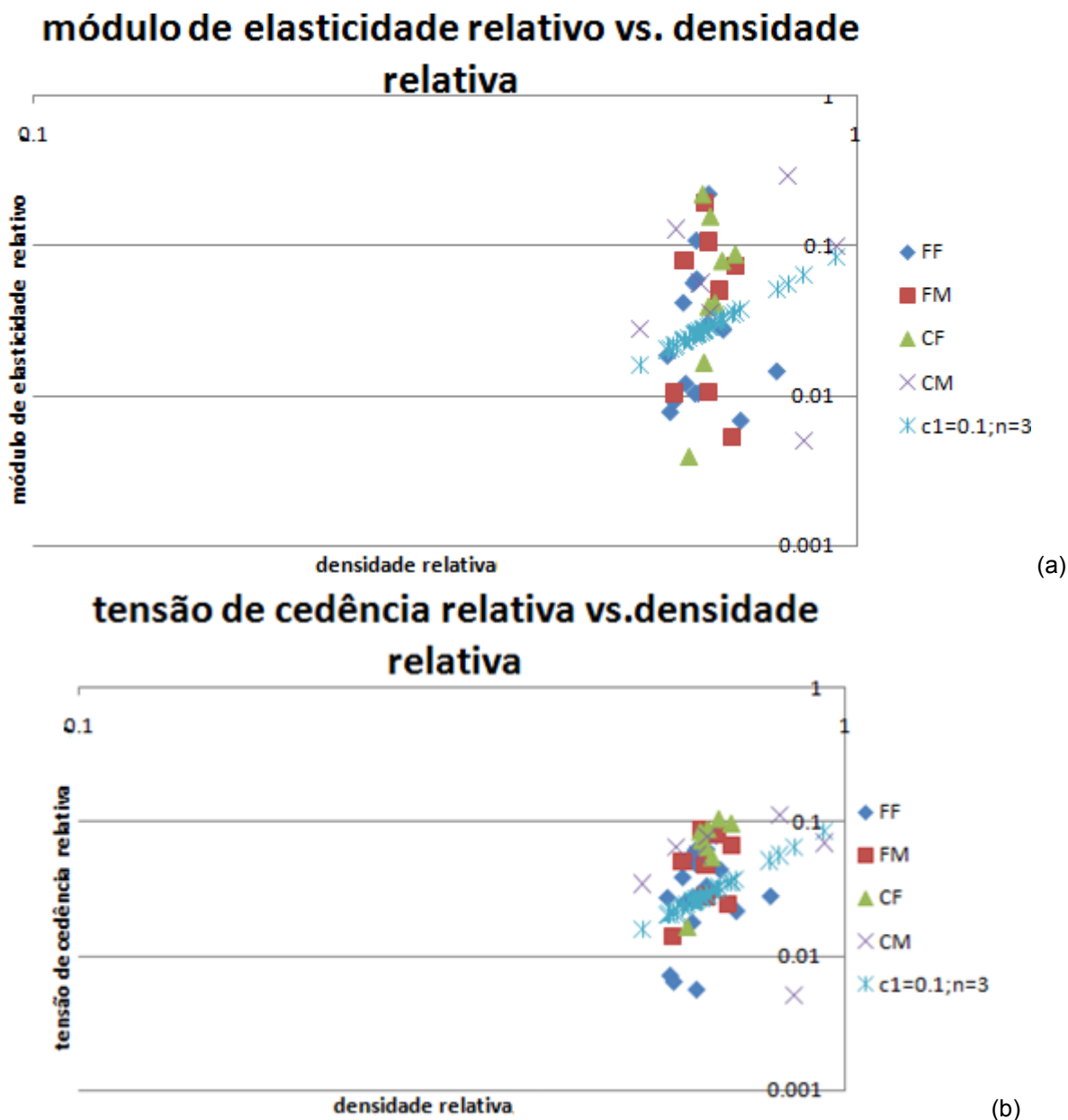


Figura 64. Gráficos de dispersão semelhantes ao da figura 52, acompanhados pela representação do ajuste usando $c_1=0.1$ e $n=3$.

Um procedimento alternativo, passa por alterar os valores utilizados para normalizar os valores das propriedades mecânicas (figura 65), pois é de esperar que os tipos de osso tenham as suas propriedades intrínsecas, isto é, as propriedades que constituem as paredes das células, alteradas. Escolhendo por exemplo para a tensão de cedência o valor 25MPa, em vez dos 136 MPa sugeridos pelo autor, verificamos que os pontos se aproximam muito da recta de declive 2, como é defendido pelo modelo, e para o caso do módulo de elasticidade 6 GPa em vez de 12GPa, verificamos que assim já alguns pontos ficam entre a recta de declive 2 e 3, tal como seria de esperar. Contudo, as dificuldades em adaptar este modelo a osso trabecular não seriam totalmente inesperadas, visto este fazer imposições demasiado rígidas para uma estrutura tão complexa como é a estrutura trabecular. Por exemplo, este modelo considera que as propriedades do material que constituem as paredes das

células são constantes e iguais para todas as amostras, o que não parece ser praticável quando se trata de material biológico.

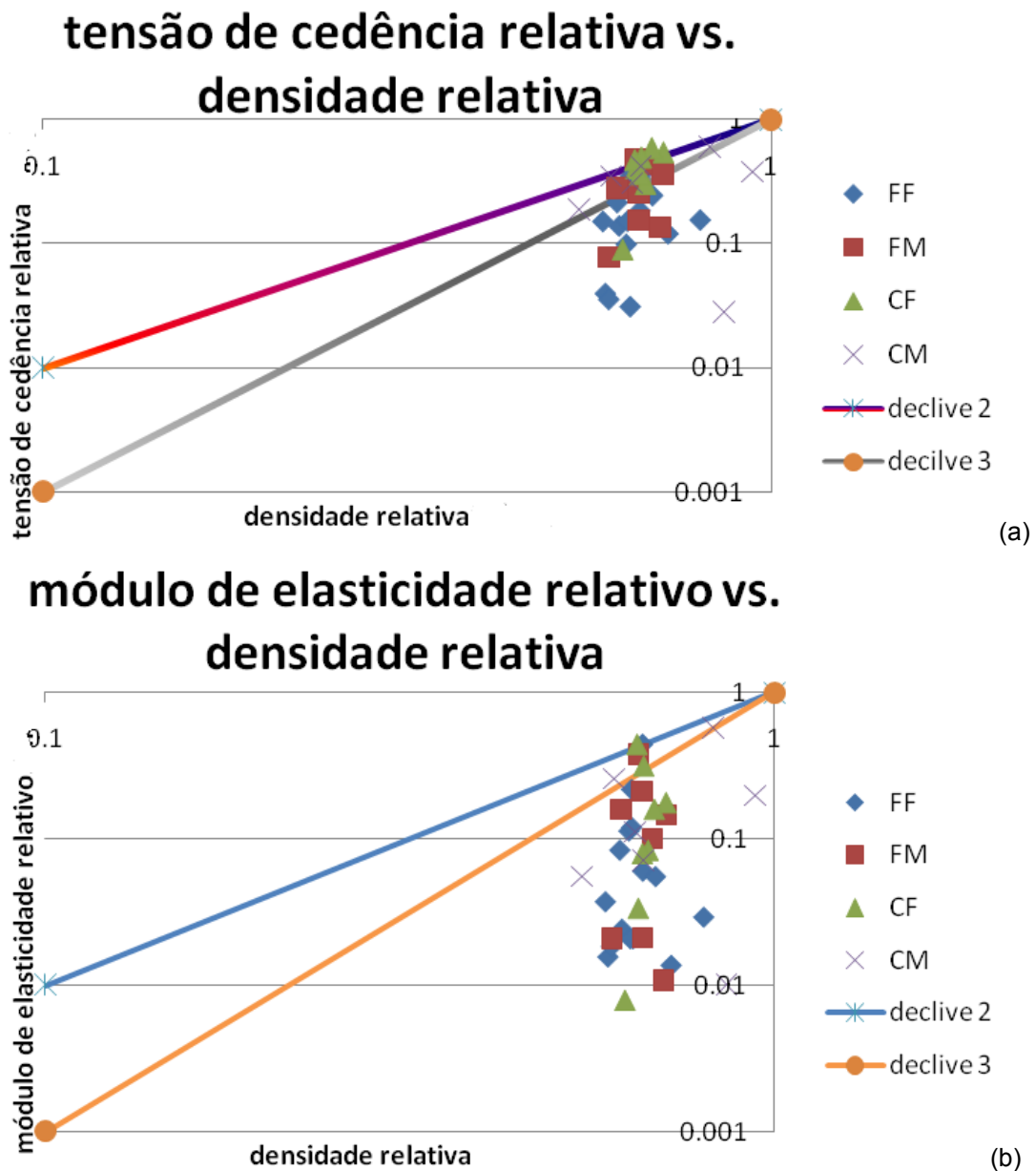


Figura 65. Ajuste logarítmico dos valores experimentais obtidos para compressão dos cilindros de osso trabecular. Em cima, tensão de cedência relativa versus densidade relativa e em baixo Módulo de Elasticidade relativo versus densidade relativa. Em ambos os casos os valores encontram-se normalizados por valores de módulo de Young ($E/6\text{GPa}$), tensão de cedência ($\sigma/25\text{MPa}$) e densidade ($\rho/2\text{g/cm}^3$), relativos ao osso que forma as paredes das trabéculas.

4.3.2. Cruzamento dos resultados dos ensaios de compressão com os dados dos doentes clinicamente avaliados

O cruzamento dos dados dos poucos doentes já clinicamente avaliados com os resultados biomecânicos, forneceu uma relação bastante interessante entre a razão entre as dimensões da cabeça de fémur normalizadas com a altura dos doentes com fractura do colo do fémur e as propriedades mecânicas do osso trabecular. Esta relação é mais evidente ao nível da tensão de cedência e, embora tenhamos poucas amostras disponíveis, a regressão obtida é praticamente

perfeita. Esta relação, caso seja confirmada por estudos com uma maior amostra, poderá permitir estimar com alguma precisão e de forma não invasiva, a resistência mecânica e a rigidez do osso trabecular, em particular de doentes osteoporóticos, tendo por base apenas as dimensões das suas cabeças femorais e as suas alturas. Esta correlação sugere que quanto maior for a cabeça de fémur normalizada pela altura, maior será a resistência biomecânica do osso trabecular, e consequentemente menor será a probabilidade de fractura.

4.4.1. Análise microscópica - Amostras não ensaiadas

Antes de mais é de realçar a variabilidade estrutural apresentada pelas diversas amostras observadas em microscopia, o que realça a não homogeneidade do osso trabecular. No osso trabecular notam-se essencialmente dois tipos de estruturas distintas interconectadas: hastes e placas perfuradas. Estas estruturas são facilmente visíveis e distinguíveis ao nível das imagens SEM, não se tendo conseguido encontrar nenhuma relação que sugira que um dos tipos é mais ou menos comum, em cada um dos dois grupos considerados. Do ponto de vista quantitativo, o grupo de doentes com fractura do colo do fémur apresenta uma distância entre trabéculas maior do que o grupo com coxartrose, de acordo com o expectável. No entanto, a espessura média das trabéculas é maior no grupo com fractura do colo do fémur. Embora este resultado possa parecer surpreendente, face a outros resultados obtidos com outras técnicas na região do colo do fémur [45] pode-se admitir que, pelo menos ao nível da epífise femoral, o aumento do espaçamento entre trabéculas seja acompanhado por uma redistribuição do osso em menos trabéculas, mas mais espessas. Esta redistribuição do osso trabecular é compatível com a manutenção da densidade trabecular e da área ocupada pelas trabéculas. A redistribuição do osso trabecular em formações mais espessas, mas mais espaçadas e menos interligadas é provavelmente relacionável com a diminuição das propriedades mecânicas do osso dos doentes que sofreram fractura do colo do fémur. A interpretação destes resultados deve ter em linha de conta as diferenças de idade entre os dois grupos. Parte das diferenças podem ser atribuíveis à diferença etária e não necessariamente às diferenças entre o osso de uma epífise potencialmente osteoporótica e o de um doente com coxartrose. De qualquer forma, a interpretação conjunta dos dados biomecânicos e imagiológicos mantém-se válida. De facto, cruzando estes resultados com os resultados obtidos anteriormente nos ensaios de compressão, constatamos que a amostra BM11, a que apresenta maior espessura trabecular média e maior distância média entre trabéculas, é a que ostenta a menor tensão de cedência do grupo das 10 amostras (0.77 MPa), por outro lado, a amostra BM74, a que possui menor distância média entre trabéculas, é a que exhibe maior módulo de elasticidade real (2660 MPa) e a segunda maior tensão de cedência (11.6 MPa). No entanto, nem todas as amostras são completamente concordantes entre resultados mecânicos e imagiológicos, não se conseguindo estabelecer uma relação directa global entre as propriedades discutidas nesta secção e as propriedades mecânicas determinadas anteriormente, o que indica que embora importantes, não são por si só suficientes para explicar na totalidade as propriedades mecânicas do osso trabecular.

4.4.2. Análise Microscópica – Amostras ensaiadas

A análise microscópica das amostras ensaiadas permitiu compreender parcialmente os mecanismos gerais de como o osso trabecular reage às tensões compressivas e como ocorrem as fracturas das diferentes estruturas. Ao nível das hastes, verifica-se que a fractura destas é bastante irregular, não se vislumbrando nenhum padrão em especial no que diz respeito ao local em que esta falência ocorre e, como seria de esperar, as hastes trabeculares mais espessas parecem ter uma maior resistência à fractura. Para o caso das placas perfuradas, o mecanismo de fractura parece iniciar-se com a formação de fissuras que se propagam até originarem a fractura propriamente dita, existindo também indícios de que os locais das perfurações poderão ser “pontos fracos” da estrutura, visto se ter observado fractura nestas localizações. Para a fractura das placas trabeculares será necessário uma tensão aplicada maior do que no caso das hastes, visto ter-se verificado a existência de hastes fracturadas em locais em que placas estavam praticamente intactas, o que é um indicador de que estas duas estruturas terão diferentes funções na arquitectura trabecular, com as hastes com uma função mais relacionada com a absorção de energia resultante de embates, enquanto as placas terão uma função mais de suporte e de resistência a solicitações biomecânicas. Isto também aponta no sentido de que as fracturas das hastes serão as responsáveis pela primeira cedência do osso trabecular quando este é solicitado mecanicamente, ou seja, é a cedência destas estruturas que marca a passagem da zona de comportamento elástico, para a zona de comportamento plástico, onde as deformações se tornam permanentes.

Não foram detectadas diferenças evidentes entre os padrões microscópicos dos ossos ensaiados entre os doentes com fractura do colo do fémur prévio e os doentes com coxartrose.

5. Conclusões e sugestões para trabalho futuro

A osteoartrose e a osteoporose, embora sendo doenças distintas, podem ser causas de um mesmo procedimento clínico: a artroplastia total da anca. Neste trabalho, utilizaram-se epífises fémorais extraídas a doentes com ambas as patologias, de modo a se estudar as características estruturais e as propriedades mecânicas do osso trabecular. Através dos ensaios biomecânicos de compressão, foi possível aferir, como seria expectável, que as amostras cilíndricas de osso proveniente da epífise femoral proveniente de indivíduos que tinham sofrido fracturas do colo do fémur apresentam propriedades mecânicas piores do que amostras semelhantes provenientes de doentes com coxartrose. Curiosamente, estas diferenças ao nível das propriedades mecânicas não foram acompanhadas por diferenças significativas na densidade do osso trabecular, o que sugere que estas se devem mais a alterações ao nível da qualidade do osso, do que ao nível da quantidade. Nos casos estudados de fractura do colo do fémur verificou-se que o sexo feminino apresenta uma menor resistência e rigidez do que o sexo masculino, o que reflecte a maior incidência de osteoporose e de fractura neste grupo. Por outro lado, nos casos de coxartrose, o sexo feminino

parece apresentar melhores propriedades mecânicas. Ao comparar as dimensões das epífises femorais estudadas, notou-se uma grande dispersão entre os grupos femininos, possuindo as mulheres que sofreram fractura do colo do fémur, epífises bastante menores, o que sugere que mulheres com cabeças de fémur dimensionalmente mais reduzidas podem ser susceptíveis à fractura. Surpreendentemente, verificou-se que a espessura cortical dos grupos dos doentes com fractura do colo do fémur é maior do que a dos doentes com coxartrose, e que esta espessura é maior no grupo FF, que é aquele com menor diâmetro da epífise femoral.

As imagens microscópicas analisadas permitiram realçar a extrema complexidade que a estrutura trabecular apresenta e a forma como os mecanismos de fractura ocorrem quando este é solicitado mecanicamente. Não se conseguiu encontrar uma relação clara e directa entre as propriedades medidas pela análise destas imagens e as propriedades mecânicas determinadas, embora o espaçamento trabecular associado a uma reorganização do osso em trabéculas maiores possa ser relevante no mecanismo de aumento da fragilidade do osso. A observação de amostras depois de serem ensaiadas, permitiu inferir que as hastes trabeculares são estruturas mais frágeis e susceptíveis à fractura do que as placas trabeculares, e que será a sua fractura a responsável pela cedência do osso trabecular quando este é mecanicamente solicitado. Também, permitiu compreender melhor como as fracturas das estruturas trabeculares ocorrem, tendo-se observado que a fractura das hastes ocorre sempre de forma bastante irregular e que as placas trabeculares cedem segundo um mecanismo de propagação de fissuras.

A sugestão mais óbvia para uma possível continuação deste trabalho, passa por aumentar o universo de amostras testadas e visualizadas em SEM, de modo a obter resultados mais fiáveis. Seria também importante testar epífises sem patologia, colhidas em cadáveres, de modo a obterem-se valores de referência para o osso "normal". De modo a melhorar a caracterização do osso trabecular será importante proceder a análise por micro tomografia computadorizada e por microscopia multifotónica.

6. Referências bibliográficas

- [1] An YH, Draughn, RA. Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface. CRC Press LLC, Boca Raton, 2000;
- [2] Tortora GJ, Grabowsky SR. Introduction to Human Body, 5th edition. John Willey & Sons, 2001;
- [3] Boron WF, Boulpaep EL, Medical Physiology. Saunders, 2003;
- [4] HILL PA. Bone remodelling. British Journal of Orthodontics. vol25, 1998, 101-107;
- [5] Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Epidemiologia da osteoporose. Mecanismos de Remodelação óssea e factores protectores do osso. Acta Reum Port 2005; 30: 225-40;
- [6] Ruimerman R. Modeling and remodeling in bone tissue. Eindhoven : Technische Universiteit Eindhoven, 2005;
- [7] http://www.coe-stemcell.keio.ac.jp/member/img/member_img/zu_matsuo2.jpg;
- [8] <http://www.medscape.com/content/2000/00/40/89/408911/art-wh0308.aubi.fig2.gif>;
- [9] Ralston SH, Crombrughe B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis, (review);
- [10] Biomechanical evaluation in osteoporosis: ovariectomized rat model. clin rheumatol(2007) 26:380-384,
- [11] Kansis JA, Bulet N, Cooper C, Delmas PD. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. (position paper);
- [12] <http://myhealth.centrahealth.com/library/healthguide/en-us/support/topic.asp?hwid=tp10201>;
- [13] <http://www.reshealth.org/yourhealth/healthinfo/default.cfm?pageID=P08957>;
- [14] Brunner LC, Eshlian-oates L. Hip Fractures in Adults. AMERICAN FAMILY PHYSICIAN, FEBRUARY 1, 2003 / VOLUME 67, NUMBER 3, 537-542.
- [15] Hinton R, Moody RL. Osteoarthritis: Diagnosis and Therapeutic Considerations. AMERICAN FAMILY PHYSICIAN, MARCH 1, 2002 / VOLUME 65, NUMBER 5, 841-848.
- [16] Osteoarthritis: National clinical guideline for care and management for care and management in adults. National Collaborating Centre for Chronic Conditions. 2008;
- [17] Kwan D, Papoushek C, Osteoarthritis- Chapter 36. *Canadian Pharmacists Association. 2002.*
- [18] <http://www.childrenshospital.org/az/Site556/Images/Hip.jpg>
- [19] Sandmeir RH, Osteoarthritis and Exercise: Does Increased Activity Wear Out Joints?. The Permanente Journal . 2000. Volume 4 No. 4, 26-28.
- [20] Handout on heat. osteoarthritis, National Institutes of Health National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, Publication No. 02-4617 July 2002
- [21] http://www.abc.net.au/health/library/img/osteoarthritis_diag.jpg
- [22] Jordan, G.R., Loveridge, N., Bell, K.L., Power, J., Dickson, G.R., Vedi, S., Rushton, N., Clarke, M.T. Reeve, J., 2003. Increased femoral neck cancellous bone and connectivity in coxarthrosis (hip osteoarthritis). Bone 32, 86-95.

- [23] Li, B., Aspden, R.M., 1997a. Composition and mechanical properties of cancellous bone from the femoral head of patients with osteoporosis or osteoarthritis. *J. Bone Mater. Res.* 12, 641–651.
- [24] Sun, S.-S., Ma Difference in femoral head and neck material properties between osteoarthritis and osteoporosis, *J. Clin. Biomech.* (2008),doi:10.1016/j.clinbiomech.2007.11.018
- [25] Verstraeten, A., Van Ermen, H., Haghebaert, G., Nijs, J., Geusens, P., Dequeker, J., 1991. Osteoarthritis retards the development of osteoporosis. Observation of the coexistence of osteoarthritis and osteoporosis. *Clin. Orthop.* 264, 169–177.
- [26] Cooper C, Cook P, Osmond C, Fisher L, Crawley M. Osteoarthritis of the hip and osteoporosis of the proximal femur. *Ann Rheum Dis* 1991;50:540–42.
- [27] Nevitt, M.C., Lane, N.E., Scott, J.C., Hochberg, M.C., Pressman, A.R., Genant, H.K., Cummings, S.R., 1995. Radiographic osteoarthritis of the hip and bone mineral density. The study of osteoporotic fractures research group. *Arthritis Rheum.* 38 (7), 907–916.
- [28] Byers, P.D., Contepenni, C.A., Farkas, T.A., 1970. A post mortem study of the hip joint. *Ann. Rheum.* 29, 15–31.
- [29] Radin EL, Paul IL 1970 Does cartilage compliance reduce skeletal impact loads? The relative force-attenuating properties of articular cartilage, synovial fluid, periarticular soft tissues and bone. *Arthritis Rheum* 13:139-144
- [30] Burr, D.B., Schaffler, M.B., 1997. The involvement of subchondral mineralized tissues in osteoarthritis: quantitative microscopic evidence. *Microsc. Res. Tech.* 37, 343–357.
- [31] Gibson, L.J. Biomechanics of cellular solids. *J. Biomech* 2005; 38: 377-99;
- [32] Ashby MF, Gibson LJ. *Cellular Solids: Structure and Properties*. 2nd ed, Cambridge University Press, Cambridge, 1997;
- [33] Turner, CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial (Review article). *Bone* 1993; 14: 595-606;
- [34] Beer FP, Russell Johnston ER. *Mechanics of Materials*. McGraw-Hill 1992
- [35] Helgason B, Perilli E, Schileo E, Taddei F. Mathematical relationships between bone density and mechanical properties: A literature review. *Clinical Biomechanics* 23 (2008) 135–146.
- [36] Keaveny, T.M., Borchers, R.E., Gibson, L.J., and Hayes, W.C., Theoretical analysis of the experimental artifact in trabecular bone compressive modulus, *J. Biomech.*, 26, 599, 1993.
- [37] Linde, F., Hvid, I., Madsen, F., 1992. The effect of specimen geometry on the mechanical behaviour of trabecular bone specimens. *J. Biomech.* 25, 359–368.
- [38] Reimer L. *Scanning Electron Microscopy – Physics of image formation and microanalysis*. Springer-Verlag (series in Optical Science) 1985;
- [39] Watt IM. *The principles and practice of electron microscopy*. Cambridge University Press, Cambridge, 1985;
- [40] http://www.iap.tuwien.ac.at/~werner/qes_tut_interact.html
- [41] <http://www.sawbones.com>

[42] Laforgia R, Specchiulli F, Solarino G, Nitti L. Radiographic variables in normal and osteoarthritic hips. *Bull Hosp Jt Dis.* 1996;54(4):215-21.

[43] Yang RS, Wang SS, Liu TK. Proximal femoral dimension in elderly Chinese women with hip fractures in Taiwan. *Osteoporos Int.* 1999;10(2):109-13.;

[44] Michelotti J, Clark J. Femoral neck length and hip fracture risk.. *J Bone Miner Res.* 1999 Oct;14(10):1714-20.

[45] Blain H, Chavassieux P, Portero-Muzy N, Bonnel F, Canovas F, Chammas M, Maury P, Delmas PD. Cortical and trabecular bone distribution in the femoral neck in osteoporosis and osteoarthritis. *Bone.* 2008 Jul 29.

[46] Nyman JS, Roy A, Reyes MJ, Wang X. Mechanical behavior of human cortical bone in cycles of advancing tensile strain for two age groups. *J Biomed Mater Res A.* 2008 Apr 24.

ANEXO A.1

Amostra	Idade (anos)	σ_{ced} (MPa)	W_{ced} (N.mm/m ³)	E_{real} (MPa)	Diâmetro da cabeça do fêmur (mm)	Espessura cortical (mm)	Densidade (g/cm ³)	Rácio h/d
FRATURAS FEMININAS								
BM13	73	0.770	0.018	124.11	39.31	1.440	1.281	1.22
BM19	78	2.440	0.049	676.78	45.82	2.290	1.265	1.7
BM53	82	2.970	0.349	81.53	43.68	1.390	1.444	0.75
BM11	83	0.980	0.065	93.02	40.90	2.310	1.184	1.6
BM139	83	6.744	0.162	1303.38	42.62	2.510	1.275	1.16
BM131	83	3.428	0.435	143.96	43.08	1.390	1.237	0.92
BM157	83	8.370	0.401	717.44	44.21	3.280	1.276	1.6
BM14	85	0.880	0.034	109.56	42.69	2.370	1.197	1.13
BM57	87	3.760	0.392	123.98	45.59	1.870	1.270	0.92
BM149	87	3.730	0.397	221.87	41.06	2.140	1.175	1
BM140	87	8.580	0.105	2656.92	46.48	2.590	1.320	1.73
BM46	88	4.556	0.294	359.79	43.01	2.540	1.321	1.4
BM145	93	3.830	0.557	174.13	41.37	2.730	1.599	0.98
BM32	90	6.025	0.382	330.00	45.45	2.840	1.375	1.27
BM143	96	5.300	0.335	500.00	44.45	2.840	1.229	1.51
FRATURAS MASCULINAS								
BM135	82	3.856	0.076	1260.14	48.27	2.510	1.318	1.37
BM36	82	11.960	0.591	2270.00	49.97	2.330	1.304	1.44
BM26	84	3.357	0.343	64.00	48.91	1.700	1.410	1.12
BM85	84	10.900	0.504	600.00	48.30	2.430	1.361	1.37
BM20	93	6.970	0.242	952.38	52.54	2.830	1.231	1.9
BM23	93	6.494	0.415	126.08	48.12	2.060	1.319	1.45
BM35	93	1.942	0.141	125.00	51.80	1.960	1.198	1.37
BM90	93	9.110	0.573	870.00	48.51	2.020	1.423	1.08
COXARTROSES FEMININAS								
BM89	32	9.970	0.684	200.00	54.43	1.520	1.302	1.16
BM73	40	7.480	0.370	500.00	47.43	2.030	1.343	1.84
BM34	41	13.370	0.395	1059.00	46.52	0.780	1.422	1.7
BM87	43	14.480	1.277	953.32	49.57	1.370	1.370	0.86
BM21	55	12.170	0.307	1888.70	49.73	2.580	1.325	1.87

BM74	59	11.600	0.475	2660.00	47.07	1.540	1.297	2.1
BM106	60	2.226	0.443	47.07	44.22	1.350	1.248	0.8
BM18	66	8.890	0.318	473.93	42.91	2.160	1.319	1.73
COXARTROSES MASCULINAS								
BM48	20	0.690	0.051	59.74	46.05	1.590	1.724	0.88
BM75	24	8.693	0.264	1538.00	53.31	1.340	1.206	1.4
BM66	38	4.630	0.095	330.00	47.44	1.270	1.089	1.5
BM70	56	9.420	0.421	1176.00	45.97	2.680	1.888	1.87
BM22	63	10.410	0.477	423.72	54.64	1.600	1.325	1.11
BM33	69	7.620	0.238	666.66	50.38	1.420	1.289	2
BM41	-	15.020	0.308	3448.65	49.71	2.940	1.650	1.7