

Desenvolvimento de sistema para reprodução e análise de curvas força-distensão em tendões calcâneos de ratos

Development of system for reproduction and analysis of load-elongation curves in rat Achilles tendon

Flávio Santos da Silva¹, Manilo Soares Marques², Jodonai Barbosa da Silva³, Bento João Abreu⁴, Osvaldo Trigueiro Neto⁵, Márcio Assolin Corrêa⁶.

¹Mestrando em Fisioterapia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN); ²Mestre em Física, UFRN;

³Mestrando em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Universidade de São Paulo (USP); ⁴Doutor em Biologia Celular, Professor Adjunto de Anatomia, Departamento de Morfologia, UFRN; ⁵Graduando em Física, UFRN;

⁶Doutor em Física, Professor Adjunto de Física, Departamento de Física, UFRN

Resumo

Introdução: Embora seja o mais forte dentre os tendões humanos, o tendão calcâneo (TC) é comumente afetado por condições patológicas e/ou traumáticas. Apesar da prevalência e tratamento complexo, a patomecânica da tendinopatia do calcâneo continua desconhecida. Equipamentos capazes de mensurar as propriedades biomecânicas de TCs são indispensáveis em estudos que visam elucidar fatores responsáveis pela tendinopatia ou que influenciem o reparo tecidual. **Objetivo:** Desenvolver um dispositivo, de baixo custo, acoplado a célula de carga para avaliação biomecânica de TCs de ratos, alcançando reprodutibilidade de resultados em conformidade com a literatura. **Metodologia:** Após calibração do sistema (relação entre Tensão de saída e Força), seis TCs controle e seis TCs previamente lesionados foram extraídos de ratos Wistar, anexados ao dispositivo e submetidos à sobrecarga gradual até o ponto de ruptura total. Foram analisados a força máxima (N), distensão máxima (mm), coeficiente de rigidez (N/mm) e energia absorvida no ponto de ruptura (N.mm). **Resultados:** Os TCs lesionados demonstraram menor força máxima (27,15 ± 6,67 N) em comparação aos controles (41,02 ± 10,19 N). Ainda, exibiram redução significativa na rigidez (controle 20,37 ± 6,61; lesionados 12,99 ± 2,22 N/mm). Não se observou diferença na distensão máxima e energia absorvida entre os grupos. **Conclusão:** Os dados obtidos verificam a confiabilidade do sistema, o qual constitui uma ferramenta eficiente para investigação das propriedades mecânicas de TCs em modelos de tendinopatia e reparo tecidual.

Palavras-chave: Tendinopatia. Tendão Calcâneo. Biomecânica. Resistência à Tração. Ratos.

Abstract

Introduction: Although it is the strongest of all human tendons, the Achilles tendon (AT) is commonly affected by pathological and/or traumatic conditions. Despite the prevalence and complex treatment, the pathomechanics of Achilles tendinopathy remains poorly understood. Equipments capable of measuring the biomechanical properties of AT are indispensable in studies designed to elucidate factors responsible for tendinopathy or tissue repair. **Objective:** To develop a low cost device connected to load cell for biomechanical assessment of rat ATs, reaching reproducible results, in accordance with literature. **Methodology:** After system's calibration (Output voltage-Force relationship), six control and six previously injured ATs were excised from Wistar rats, attached to the device and underwent progressive overload until total rupture. Thus, the maximum load (N), maximum displacement (mm), stiffness (N/mm) and absorbed energy at the breaking point (N.mm) were analyzed. **Results:** The injured ATs showed a lower maximum force (27.15 ± 6.67 N) compared to controls (41.02 ± 10.19 N). Furthermore, their stiffness was significantly reduced (injured 12.99 ± 2.22; control 20.37 ± 6.61 N/mm). No changes were observed in maximum displacement and in absorbed energy. **Conclusion:** The obtained data demonstrate the reliability of the system, which constitutes a useful tool for investigating the mechanical properties of ATs in experimental models of tendinopathy and tissue repair.

Keywords: Tendinopathy. Achilles Tendon. Biomechanics. Tensile Strength. Rats.

INTRODUÇÃO

O tendão calcâneo (TC), mais popularmente conhecido como tendão de Aquiles, é o mais forte e espesso dentre todos os tendões do corpo humano (BENJAMIN et al., 2007; MAFFULLI, 1999), podendo suportar forças superiores a 12 vezes o peso corporal (KOMI et al., 1992) e por isso possui importante papel na deambulação e estabilidade do corpo.

Como qualquer tendão, o TC é constituído por um tecido conjuntivo denso e fibras de colágeno organizadas hierarquicamente. Estas se agrupam em feixes, sendo orientadas paralelamente entre si e longitudinalmente ao maior eixo do tendão (LIN et al., 2004). Além disso, na microscopia de luz polarizada observa-se uma configuração ondulada das fibras colágenas (crimp) (MAGANARIS et al., 2004). Devido sua organização peculiar, o tendão é capaz de transmitir as forças geradas nos músculos aos ossos, e, dessa maneira, propicia o adequado movimento das articulações e dos membros.

Entretanto, como estão sujeitos a movimentos repetidos e cargas excessivas, os tendões são propensos

Correspondência / Correspondence: Flávio Santos da Silva. Departamento de Fisioterapia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário Lagoa Nova. Caixa Postal 1524. Av. Senador Salgado Filho, S/N, CEP 59078-970, Natal/RN - Brasil. Fone: (84) 3342-2002. E-mail: mandarparaflavio@gmail.com.

a lesões agudas e crônicas (LIN et al., 2004). Sabe-se que o TC é comumente afetado por muitos problemas originados de condições patológicas e/ou traumáticas. Curiosamente, o TC tem liderado a crescente incidência de problemas com tendões (JARVINEN et al., 2005; MAFFULLI, 1999), sendo o tendão mais frequentemente rompido (KANNUS; JOZSA, 1991).

A etiologia exata de tais lesões permanece confusa até hoje, embora se acredite que seja multifatorial (KRAHE; BERLET, 2009), com influência de fatores intrínsecos e/ou extrínsecos. Em meio a diversos fatores predisponentes, a imposição de sobrecarga excessiva sobre o tendão é considerada o principal estímulo para a tendinopatia. E mesmo que a intensidade do estresse imposto não exceda os limites fisiológicos do tendão, a lesão pode ocorrer caso não haja tempo suficiente para reparo do dano acumulado por microtraumas sucessivos (SHARMA; MAFFULLI, 2006).

Após a lesão, o tendão não se regenera completamente (REES et al., 2009), mas o processo de reparo tendíneo resulta na formação de tecido cicatricial. Dessa forma, as propriedades mecânicas do tecido reparado são inferiores àquelas do tendão normal. (FRANK et al., 1992). E, embora haja incremento com o tempo, tais propriedades não retornam aos níveis normais, mesmo depois de um longo período (FRANK; MACDONALD; SHRIVE, 1997).

As propriedades mecânicas dos tendões são tradicionalmente estudadas através de testes que consistem na distensão do tecido previamente isolado (*in vitro*) pela aplicação de uma força externa até sua ruptura total, onde são registrados parâmetros como: força máxima (no momento de ruptura), distensão máxima (no momento de ruptura), coeficiente de rigidez (em N/mm) e energia absorvida no momento de ruptura (em N.mm) (CIRCI et al., 2009; ELIASSON et al., 2007).

Esses testes produzem uma curva tensão-deformação, obtidas a partir de curvas força-distensão, onde é possível se identificar quatro regiões diferentes (Figura 1). A região I é a porção de concavidade inicial. Tais forças causam alongamento do mesmo através da redução do padrão de relaxamento (crimp) das fibras colágenas. Na região II, porção linear da curva, o tendão exibe um comportamento elástico, com aumento progressivo na sua rigidez. Estiramento além deste ponto leva o tendão à região III, onde ocorrem microrrupturas sem um padrão previsível ou ordenado. Com o estiramento adicional, a curva chega à região IV, onde ocorre a ruptura completa do tecido (JUNG et al., 2009).

Equipamentos capazes de viabilizar a mensuração das propriedades biomecânicas dos tendões, apesar de caros, são indispensáveis em estudos que objetivam elucidar técnicas de incremento do reparo tecidual ou, ainda, que visem analisar a influência de certos fatores

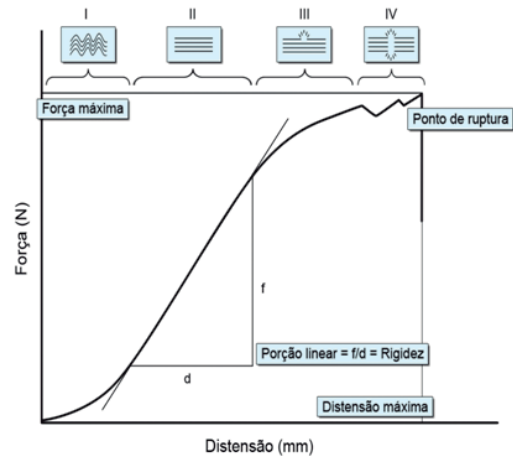


Figura 1. Representação esquemática da curva força-distensão típica para um tendão saudável tracionado além de seu limite elástico, até a falha macroscópica. As regiões características e as propriedades mecânicas de interesse são mostradas.

no surgimento da tendinopatia. Tais metodologias são consideradas adequadas por simular o modo como a carga atua em diversos tendões em situações reais (MAGANARIS et al., 2004).

Segundo Jung et al. (2009), apesar do vasto número de publicações no intento de esclarecer a biomecânica dos tendões na última década, o assunto ainda gera muitas discussões e permanece controverso. Diante disso, o presente trabalho descreve o desenvolvimento de um sistema viável e de baixo custo, conectado a célula de carga, para medição precisa de parâmetros biomecânicos em TCs de ratos. A sensibilidade do sistema foi testada através da comparação dos parâmetros biomecânicos de tendões lesionados e controles, verificando a conformidade com dados da literatura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Montagem do Sistema

O principal elemento destes dispositivos é a denominada célula de carga, capaz de transformar a deformação mecânica, sobre um elemento denominado “strain-gauge” (SG), em sinal elétrico (tensão) (BALBINOT; BRUSAMARELLO, 2010).

Normalmente o SG é parte integrante de uma Ponte de Wheatstone (PW). Esta configuração permite calcular a resistência de um resistor desconhecido com uma alta precisão. Assim, podemos montar uma PW utilizando três resistências previamente conhecidas e substituindo uma resistência pelo elemento sensor de um SG. Desta forma, conhecendo a tensão de alimentação sobre o circuito e obtendo a tensão de balanço, é possível obter a resistência do SG para uma determinada deformação. A Figura 2 abaixo representa uma PW característica onde uma das resistências foi substituída por um elemento sensor SG.

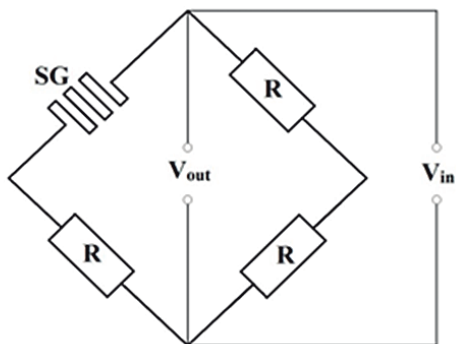


Figura 2. Configuração de uma Ponte de Wheatstone com um elemento “strain-gauge” (SG) substituindo um dos resistores da ponte. A tensão de entrada do circuito é V_{in} e a tensão de leitura, proporcional a resistência do SG, é dada por V_{out} . Vale lembrar que esta tensão de saída V_{out} é proporcional à resistência do SG e conseqüentemente à deformação do mesmo.

Levando-se essa configuração elétrica em consideração, podemos utilizar a PW acima sobre uma estrutura de carga calibrada para gerar determinada deformação quando submetida a uma determinada força. Isto configura a chamada célula de carga. Baseado neste princípio de funcionamento, uma célula de carga será utilizada como parte principal de um sistema de medidas de curvas “força versus distensão” para sistemas biológicos (tendões de ratos). O sistema desenvolvido neste trabalho está baseado sobre a célula de carga comercial que, de acordo com o fabricante, possui uma capacidade máxima de 40 kg, mínima de 0,05 kg e precisão de 0,01 kg e conecta-se a um micrômetro capaz de medir a distensão dos elementos biológicos.

O sistema é alimentado por uma fonte de corrente/tensão da Agilent modelo 6613C. Também de acordo com as especificações do fabricante da célula de carga, a tensão ideal de alimentação (V_{in}) é de 3V sobre a PW. Para a leitura da tensão V_{out} , é utilizado um multímetro digital de bancada 6½ dígitos (Agilent modelo 34401A). Ambos os equipamentos possibilitam a leitura/controlar através de interface GPIB para automação parcial do sistema de medida.

A automatização do sistema se deu a partir da incorporação de um motor de passo (motor de quatro passos; 1,8 graus por passo; 0,97 N.m de torque), que foi conectado ao micrômetro para produzir a rotação deste e estiramento do espécime biológico sob análise. Uma placa de circuito conectava o motor ao computador, permitindo o controle de sua alimentação e coordenação de seus movimentos. No computador, o sistema era controlado por programas em linguagem C que, por sua vez, eram, juntamente aos programas de medição, controlados por linguagem HP VEE®. Desse modo, antes de cada ensaio, era possível determinar o sentido de rotação do motor, a periodicidade das medições, bem como a velocidade de estiramento dos tendões, que ocorria de maneira contínua e precisa.

O diagrama ilustrado na Figura 3 demonstra a montagem do sistema. Nesta figura, pode-se identificar cada um dos componentes do equipamento desenvolvido. Para seu funcionamento, é necessário ainda uma fonte de corrente/tensão, um multímetro de 6½ dígitos e um computador para controle e obtenção dos dados, como citado anteriormente.

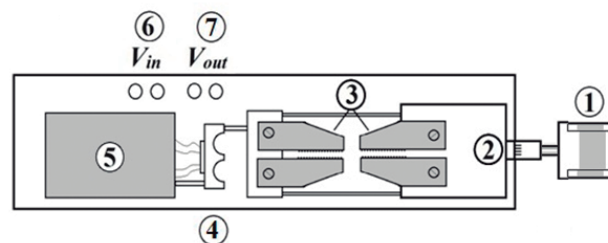


Figura 3. Montagem do sistema de obtenção de curvas força-distensão. Na figura são observados: 1 - Motor de passo automaticamente controlado; 2 - Micrômetro; 3 - Sistema de fixação do elemento biológico; 4 - Célula de carga; 5 - Peça de fixação da célula de carga; 6 - Terminais para alimentação da célula de carga (fonte de tensão 3V DC); 7 - Terminais de medição da tensão de saída da PW.

A Figura 4 apresenta imagens do sistema e do programa desenvolvido para a automação do equipamento. A fonte de corrente/tensão e o multímetro utilizado para funcionamento e obtenção dos parâmetros são mostrados na Figura 4A, respectivamente. As Figuras 4B e 4C demonstram em detalhes o sistema de fixação do tendão e a célula de carga, respectivamente. Na Figura 4D, pode-se observar o micrômetro acoplado ao sistema. E por fim, na Figura 4E observa-se o layout da interface inteligível montada para este sistema.

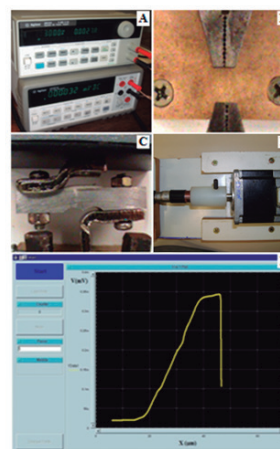


Figura 4. Imagens do sistema. (A) Fonte de corrente/tensão e multímetro de 6½ utilizados para montagem deste aparato experimental. (B) Detalhe do sistema de fixação do tendão. (C) Célula de carga. (D) Motor de passo acoplado ao sistema. (E) Interface do programa desenvolvido para automação do sistema. Os botões são habilitados sequencialmente para proteção do circuito.

A célula de carga responde com uma tensão de saída que é proporcional à carga imposta sobre ela. Para calibração do sistema de medidas, realizamos medidas com massas em suspensão na atmosfera. Dessa maneira, foi possível medir a tensão de saída em função do peso. A Figura 5 mostra o diagrama obtido com este procedimento. Foram realizadas repetidas séries com o mesmo procedimento para verificar a reprodutibilidade dos resultados. O ajuste do gráfico possibilitou encontrar os parâmetros linear e angular. O parâmetro linear $PL = 0,0119$ V é a tensão de off-set da célula de carga. Esta tensão se mostrou reprodutível cada vez que a célula de carga era alimentada com 3V DC (V_{in}). O parâmetro angular $PA = 0,00806$ V/N é justamente o parâmetro de conversão desta célula de carga para a tensão de entrada V_{in} . Valores médios necessários para a ruptura de TCs de ratos saudáveis requerem uma carga de aproximadamente 50 N (CIRCI et al., 2009). Então, a calibração foi realizada para o dobro desse valor a fim de se obter uma extrapolação confiável para o sistema montado.

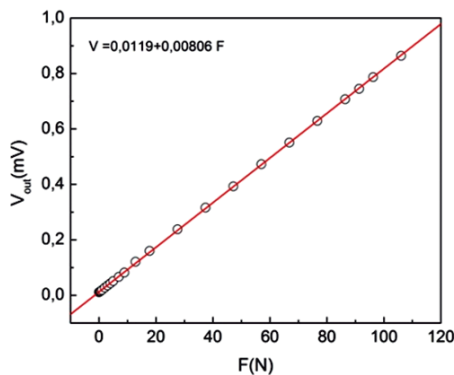


Figura 5. Calibração do SG utilizando massas suspensas. Neste gráfico temos V em mV e a força em N. O ajuste da figura nos possibilita encontrar o parâmetro angular da reta, que nos proporcionará o fator de conversão entre V_{out} e F.

Animais e Dissecção

Para se testar a fidedignidade do aparelho, realizamos experimentos em condições já relatadas na literatura. Previamente à efetivação dos ensaios de tração definitivos, foram realizados ensaios piloto com TCs extraídos de ratos doados por pesquisadores de nossa instituição. Essa etapa foi importante para padronizar o modo de fixação dos espécimes ao sistema, bem como a velocidade de aplicação da carga incremental utilizada nos ensaios. Uma vez que foi verificada constância das medidas piloto, iniciaram-se os testes definitivos.

Assim, para apresentação deste trabalho foram utilizados seis ratos albinos Wistar (12 tendões), com três meses de idade, pesando entre 240 e 300 g. Os experimentos foram realizados de acordo com a regulamentação local após aprovação pelo Comitê de Ética para Uso de Animais de Experimentação (CEUA/UFRN), sob o protocolo de número 017/2009.

Os animais foram anestesiados com administração intraperitoneal de ketamina (60 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). De acordo com o protocolo empregado por Hapa et al. (2009) e por Orhan et al. (2004), produziu-se uma lesão aguda no tendão dos animais: após exposição cirúrgica do tendão, uma ruptura parcial no TC do membro esquerdo dos animais foi realizada com agulha de insulina (número 21), proximalmente à inserção no osso calcâneo. Em seguida, a pele foi suturada e os animais permaneceram alojados em gaiolas com água e alimentação ad libitum. Após 21 dias, os animais foram sacrificados com alta dose intraperitoneal de anestésico e os tendões do lado esquerdo (lesionados) e do lado direito (controles) foram dissecados livremente do tecido mole externo e excisionados conjuntamente com o osso calcâneo e partes distais do ventre muscular do tríceps sural. Em seguida, os espécimes foram embebidos em solução salina e armazenados a -80° C para posterior análise biomecânica. O congelamento do tendão nessas condições não altera suas propriedades biomecânicas (MOON et al., 2006; WOO et al., 1986).

Teste Biomecânico

Os tendões foram descongelados overnight em condições controladas de temperatura e umidade, e permaneceram envoltos em gaze embebida com solução salina (0,9% NaCl) para prevenção de ressecamento. Para o acoplamento dos espécimes (ventre-tendão-osso) ao aparelho, cada porção de ventre muscular foi desbastada e posicionada entre dois pequenos pedaços de lixa fina com adição de cola instantânea (ELIASSON et al., 2007; STEYAERT et al., 2006). Dessa maneira, criou-se uma interface entre o tecido e a garra a qual possibilita diminuição do deslizamento e minimização da compressão (i.e., lesão) no próprio tendão. Em seguida, as extremidades proximal e distal foram fixadas às garras metálicas denteadas do aparelho (Figura 4B). Subsequentemente, iniciou-se o teste de tensão, com uma taxa de deslocamento de 1,8 mm/min. Desse modo, foi imposta sobrecarga gradual até o ponto de ruptura total e, simultaneamente, um diagrama da força em função da distensão, para cada espécime, foi expresso na interface do programa desenvolvido para obtenção dos dados. Assim, analisamos aspectos do comportamento de cada tendão e mensuramos os parâmetros de força máxima (carga máxima durante a ruptura do tecido, em N), distensão máxima (grau máximo de distensão durante a aplicação da carga até a ruptura, em mm), coeficiente de rigidez (em N/mm) e energia absorvida no ponto de ruptura (em N.mm), de acordo com Jung et al. (2009).

Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi inicialmente realizada com o teste Shapiro-Wilk, que mostrou distribuição normal em todas as variáveis. Então, o teste t pareado foi aplicado para verificar diferenças entre os dois grupos de tendões, em termos de parâmetros biomecânicos. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP). Um P valor menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A Figura 6 mostra duas curvas força-distensão justapostas em um único diagrama, referente aos tendões do animal 3. Pode-se perceber nesta figura o comportamento característico de uma curva força-distensão, com as respectivas regiões I, II, III e IV. Notam-se, ainda, detalhes como os diferentes graus de inclinação da região linear das curvas e a presença de microrrupturas, que se apresentam como quedas sutis e repentinas na força tênsil.

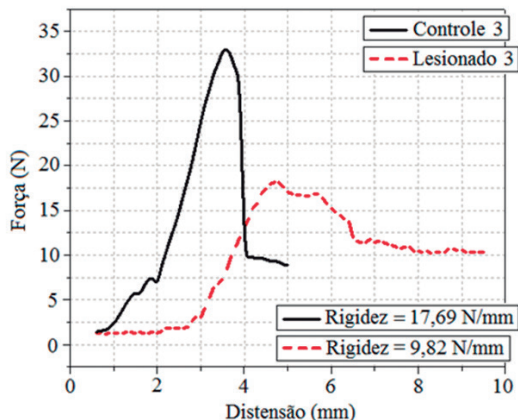


Figura 6. Sobreposição de duas curvas força-distensão típicas, obtidas dos tendões direito (controle) e esquerdo (lesado) de um dos animais.

Os testes biomecânicos indicaram algumas diferenças entre as propriedades dos grupos controle e lesionado. Especificamente, a resistência dos tendões lesionados foi significativamente menor em relação aos tendões controle, como indica sua baixa força máxima e seu coeficiente de rigidez (Figura 7A e C). Em contraste, não houve diferença aparente entre os grupos nos valores de distensão máxima e de energia absorvida no ponto de ruptura (Figura 7B e D).

Os valores dos parâmetros biomecânicos obtidos no presente estudo encontram-se de acordo com os valores evidenciados na literatura (Tabela 1). Assim, pôde-se confirmar não só a eficácia do sistema, mas também a sensibilidade para os valores mensurados.

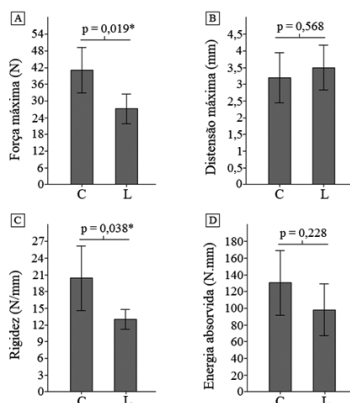


Figura 7. Propriedades mecânicas dos TCs controles (C) e lesionados (L).

Tabela 1. Valores médios de parâmetros biomecânicos registrados na literatura para TCs de ratos controle.

Fonte dos dados (Referência)	Força máxima (N)	Distensão máxima (mm)	Coefficiente de rigidez (N/mm)	Energia absorvida (N.mm)
Presente estudo	41,0 ± 10,2	3,2 ± 0,9	20,4 ± 6,6	130,0 ± 48,0
Circi et al., 2009	50,9			
Hapa et al., 2009	39,7 ± 8,2			
Marqueti et al., 2010	55,7	1,3 ± 0,1		
Olchowik et al., 2008			18,0 ± 2,1	
Murrell et al., 2008	68,0 ± 31,0	3,3 ± 1,3	8,0 ± 2,9	120,0 ± 66,0
Huang et al., 2004	61,3 ± 14,0			

Valores expressos como média ±DP, quando informado nos estudos.

DISCUSSÃO

O presente trabalho apresentou análises biomecânicas que visaram observar a capacidade do sistema para reprodução de curvas força-distensão, além de sua sensibilidade às diferentes condições dos grupos de tendões. Como esperado, evidenciou-se que TCs de ratos em processo de reparo por ruptura parcial possuem parâmetros mecânicos inferiores em relação a tendões saudáveis. Ocorre que, após a lesão, o tendão não se regenera completamente (REES et al., 2009), mas sofre processo de reparo de menor qualidade, a cicatrização (FRANK et al., 1992). Durante tal processo, esse tecido atravessa as fases inflamatória (1-7 dias), proliferativa (7-21 dias) e de remodelamento (3 semanas a 1 ano) (MAFFULLI; LONGO, 2008). O tempo de cicatrização escolhido para análise (21 dias) corresponde ao início da fase de remodelamento do reparo tendíneo. Nesta fase, o tecido ainda passa por um incremento progressivo na força tênsil. Entretanto, jamais alcança os níveis mecânicos anteriores à lesão (FRANK; MACDONALD; SHRIVE, 1997).

Além das diferenças encontradas entre os grupos, as curvas força-distensão obtidas constituem um importante aspecto deste trabalho. De acordo com a Figura 6, pode-se observar o comportamento característico de uma curva força-distensão, com as respectivas regiões I, II, III e IV. Essas regiões estão presentes em qualquer diagrama força-distensão obtido pelo tracionamento de tendões até a ruptura total (MAGANARIS et al., 2004). A região I, também conhecida como “toe region”, representa a atuação de forças relativamente pequenas sobre o tendão. De acordo com a atual interpretação, quando o tendão é tensionado, o padrão ondulado das fibras colágenas age como um amortecedor mecânico, de maneira que o alongamento tecidual somente ocorre após o estiramento dos crimps (WANG, 2006). Na região II, a carga crescente provoca estiramento das fibras colágenas já alinhadas, e, por isso, essa é a região da curva de onde se obtém a rigidez tendínea. A rigidez, nesses termos, é definida como a propriedade estrutural que representa a proporção direta entre a força aplicada

e o alongamento observado no tendão e pode ser percebida pelo grau de inclinação da região linear (II) do gráfico força-distensão (JUNG et al., 2009). Se a carga for retirada nesta região, o tendão retorna ao seu comprimento original.

Diferentemente, ao atingir a região III, a curva demonstra que o limite elástico do tendão já foi ultrapassado, tratando-se então de uma fase plástica. As oscilações sutis e repentinas da força tênsil nessa fase podem ser interpretadas como rompimento parcial do tendão ou desacoplamento parcial da interface tendão-osso (WANG, 2006).

Todos esses achados demonstram a eficácia do sistema e contribuem para o estabelecimento dos métodos empregados no presente estudo. Além disso, observamos aspectos confirmatórios do êxito durante os experimentos, os quais estão presentes nos trabalhos publicados com metodologia semelhante. Dentre eles, notamos o estalido (“pop”), audível no momento da falha macroscópica (HUANG et al., 2004). Pacientes que sofrem ruptura do TC comumente relatam ouvir tal som, acompanhado da sensação de terem sido atingidos na região do tendão (MAFFULLI, 1999). Preferencialmente, a falha macroscópica localiza-se na porção média do TC, assim como ocorreu com a maioria dos nossos espécimes. Mas também é possível ocorrer na junção tendão-osso (êntese) ou na junção miotendínea (HUANG et al., 2004).

Por outro lado, a metodologia empregada neste estudo, reconhecidamente, oferece alguns obstáculos. A avaliação de tendões isolados para testes mecânicos apresenta diversas dificuldades, tais como (i) deslizamento entre o espécime e as garras metálicas, (ii) concentrações de sobrecarga induzindo ruptura precoce e (iii) tendões com substância reduzida (JUNG et al., 2009). Obviamente, todas as melhorias feitas ao sistema de teste originaram-se de insucessos anteriores e pesquisas na literatura. Exemplos de aprimoramentos para o presente estudo foram o desbastamento do ventre muscular da extremidade proximal, o uso de lixa e de cola no acoplamento dos espécimes ao aparelho. Além disso, as bordas das extremidades das garras metálicas foram arredondadas para evitar indução da falha nesse local (STEYAERT et al., 2006). Vale salientar que, na etapa piloto, a calibração e obtenção dos dados foram realizadas em diferentes velocidades com o objetivo de se alcançar a taxa de deslocamento ideal para a configuração montada. Assim, a reprodutibilidade das curvas foi verificada para uma velocidade de 1,8 mm/min, que foi adotada como padrão neste estudo e se assemelha à de outros trabalhos (HAPA et al., 2009; HUANG et al., 2004).

Em testes de tensão sobre tendões, muitos fatores podem influenciar suas propriedades biomecânicas. Tais fatores podem ser divididos em 1) experimentais e 2) biológicos, e podem auxiliar os pesquisadores a identificar o porquê de os achados relacionados ao mesmo tecido diferirem de estudo para estudo (JUNG et al., 2009).

Cada espécime possui dimensões próprias e, portanto, o formato da curva força-distensão é diferente para cada um. Para resolver isso, os valores de força registrados (em Newtons) podem ser convertidos a valores de tensão (ou stress, em N/mm²) através da divisão pela área de secção transversa do tendão. Os valores de distensão (em milímetros) podem ser convertidos a valores de deformação relativa (ou strain, em mm/mm = %) através da divisão pelo comprimento inicial do tendão. O aspecto da curva força-distensão é similar ao da curva stress-strain, mas enquanto aquela representa as propriedades estruturais do espécime isolado, esta reflete as propriedades intrínsecas (ou qualidade) do tendão (MAGANARIS et al., 2004).

As medidas de área de secção transversa e de comprimento inicial oferecem ainda maiores obstáculos em sua obtenção. Em posse de tais medidas, seria possível normalizar os valores de força, distensão e rigidez para stress, strain, e módulo de elasticidade, respectivamente. De maneira semelhante ao coeficiente de rigidez, entende-se o módulo de elasticidade como a propriedade mecânica que representa a proporção direta entre a tensão imposta e a deformação relativa observada no tendão, sendo notado pelo grau de inclinação da região linear do gráfico stress-strain (JUNG et al., 2009). A normalização dos parâmetros possibilitaria a comparação biomecânica de TCs interespecie, inclusive com seres humanos (WOO et al., 2006).

CONCLUSÃO

O sistema de testes acima descrito se mostrou eficaz na reprodução de curvas força-distensão, constituindo um instrumento preciso, de baixo custo e, portanto, viável para a análise biomecânica em tendões de pequenos animais. Os experimentos concluídos e apresentados aqui fornecem suporte para próximos estudos, onde se pretende analisar parâmetros biomecânicos de tendões em condições diversas, como no exercício físico e em patologias induzidas. Por fim, futuramente ainda pretende-se viabilizar a obtenção das medidas de área de secção transversa e comprimento inicial dos TCs, a fim de gerar discussões de maior relevância clínica.

REFERÊNCIAS

- BALBINOT, A.; BRUSAMARELLO, V. J.; (Ed.). *Instrumentação e Fundamentos de Medidas*. 2.ed. Rio de Janeiro: LTC. 2010, v. 1, 402 p.
- BENJAMIN, M. et al. The anatomy of the achilles tendon. In: MAFFULLI, N.; ALMEKINDERS, L. C. (Ed.). *The Achilles Tendon*. London: Springer-Verlag, 2007. p. 5-16.
- CIRCI, E.; AKPINAR, S.; TUNCAY, I. C. Biomechanical and histological comparison of the influence of oestrogen deficient state on tendon healing potential in rats. *Int. Orthop.*, Berlin, v.33, n. 5, p. 1461-1466, 2009.
- ELIASSON, P. et al. Unloaded rat Achilles tendons continue to grow, but lose viscoelasticity. *J. Appl. Physiol.*, v. 103, n. 2, p. 459-463, 2007.
- FRANK, C. et al. Collagen fibril diameters in the healing adult rabbit

- medial collateral ligament. **Connect Tissue Res.**, New York, v.27, n. 4, p. 251-263, 1992.
- FRANK, C.; MCDONALD, D.; SHRIVE, N. Collagen fibril diameters in the rabbit medial collateral ligament scar: a longer term assessment. **Connect Tissue Res.**, New York, v. 36, n. 3, p. 261-269, 1997.
- HAPA, O. et.al. The effect of ethanol intake on tendon healing: a histological and biomechanical study in a rat model. **Arch. Orthop. Trauma Surg.**, Berlin, v.129, n. 12, p. 1721-1726, 2009.
- HUANG, T. F.; PERRY, S. M.; SOSLOWSKY, L. J. The effect of overuse activity on Achilles tendon in an animal model: a biomechanical study. **Ann. Biomed. Eng.**, New York, v.32, n. 3, p. 336-341, 2004.
- JÄRVINEN, T. A. H. et.al. Achilles tendon disorders: Etiology and epidemiology. **Foot Ankle Clin.**, Philadelphia, v. 10, n. 2, p. 255-266, 2005.
- JUNG, H-J.; WOO, S. L-Y.; FISHER, M. B. Role of Biomechanics in the Understanding of Normal, Injured, and Healing Ligaments and Tendons. **Sports Med. Arthrosc. Rehabil. Ther. Technol.**, London, v. 1, n. 9, p. 1758-2555, 2009.
- KANNUS, P.; JÓZSA, L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon: a controlled study of 891 patients. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 73, n. 10, p. 1507-1525, 1991.
- KOMI, P. V.; FUKASHIRO, S.; JÄRVINEN, M. Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion. **Clin. Sports Med.**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 521-531, 1992.
- KRAHE, M. A.; BERLET, G. C. Achilles Tendon Ruptures, Re Rupture with Revision Surgery, Tendinosis, and Insertional Disease. **Foot and Ankle Clin.**, Philadelphia, v. 14, n. 2, p. 247-275, 2009.
- LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair. **J. Biomech.**, Elmsford, v. 37, n. 6, p. 865-877, 2004.
- MAGANARIS, C. N. et.al. Biomechanics and Pathophysiology of Overuse Tendon Injuries. Ideas on Insertional Tendinopathy. **Sports Med.**, Auckland, v. 34, n. 14, p. 1005-1017, 2004.
- MAFFULLI, N. Rupture of the Achilles tendon: current concepts review. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 81, n. 7, p. 1019-1036, 1999.
- MAFFULLI, N.; LONGO, U. G. How do eccentric exercises work in tendinopathy? **Rheumatology**, Basel, v.47, n. 10, p. 1444-1445, 2008.
- MARQUETI, R. C.; et al. Biomechanical responses of different rat tendons to nandrolonedecanoate and load exercise. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, Copenhagen, v. 20, n. 6, p. 1-9, 2010.
- MOON, D. K. et.al. The effects of refreezing on the viscoelastic and tensile properties of ligaments. **J. Biomech.**, Elmsford, v. 39, n. 6, p. 1153-1157, 2006.
- MURRELL, G. A. et.al. Addition of Nitric Oxide Through Nitric Oxide-paracetamol Enhances Healing Rat Achilles Tendon. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 466, n. 7, p. 1618-1624, 2008.
- OLCHOWIK, G. et.al. The evaluation of mechanical properties of animal tendons after corticosteroid therapy. **Folia Histochem. Cytobiol.**, Warszawa, v.46, n. 3, p. 373-377, 2008.
- ORHAN, Z. et.al..The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis. A histological and biomechanical study. **J. Bone Joint Surg. Br.**, London, v.86, n. 4, p. 613-618, 2004.
- REES, J. D.; MAFFULLI, N.; COOK, J. Management of tendinopathy. **Am. J. Sports Med.**, Baltimore, v. 37, n. 9, p. 1855-1867, 2009.
- SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. **J. Musculoskelet. Neuronal Interact.**, Kifissia, v. 6, n. 2, p. 181-190, 2006.
- STEYAERT, A. E. et.al. The effects of substance P on the biomechanic properties of the ruptured rat Achilles' tendon. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, Chicago, v. 87, n. 2, p. 254-258, 2006.
- WANG, J. H. Mechanobiology of tendon. **J. Biomech.**, Elmsford, v.39, n. 9, p. 1563-1582, 2006. .
- WOO, S. L-Y. et.al. Biomechanics of knee ligaments: injury, healing, and repair. **J. Biomech.**, Elmsford, v.39, n. 1, p. 1-20,2006.
- WOO, S. L-Y. et.al. Effects of postmortem storage by freezing on ligament tensile behavior. **J. Biomech.**, Elmsford, v. 19, n. 5, p. 399-404, 1986.

Submetido em 24.09.2012 ;

Aceito em 04.04.2013.