

Estudo do Teste Energia Total de Ruptura para a Avaliação da Resistência Mecânica de Materiais Biológicos: Trabalho Experimental em Ratos

Maksoel A. Krauspenhar Niz^{1,2}, Hwei Diana Lee^{1,2}, Eduardo L. Konrad Burin^{1,2}, Juvenal R. N. Góes³, João José Fagundes³, Juan Carlos Sotuyo², Feng Chung Wu^{1,2,3}

¹Laboratório de Bioinformática (LABI)
Caixa Postal 1563 – 85866-900 – Foz do Iguaçu – PR – Brasil

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)
Parque Tecnológico Itaipu (PTI)
Foz do Iguaçu – PR – Brasil

³Serviço de Coloproctologia – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Campinas – SP – Brasil

{maks.niz,burin85}@gmail.com, {huei,wufc}@unioeste.br

Abstract. *The intestinal wall rupture causes severe complications due to the leakage of the fecal material contained in its interior to the abdominal cavity. Thus, biomechanical assays are frequently used to evaluate factors that could modify the mechanical behavior of these biological structures. In this work, the concepts involved in the conception of the Total Energy of Rupture assay were studied using descending colon of rats without anastomoses. The Total Energy of Rupture assay showed to be efficient to quantify the mechanical resistance of the specimens, being an adequate method to evaluate the physical-mechanical behavior of intestinal segments of rats.*

Resumo. *A ruptura da parede intestinal provoca o extravasamento do material fecal contido em seu interior para a cavidade abdominal ocasionando complicações graves. Decorrente a esse fato, ensaios biomecânicos são frequentemente utilizados para avaliar a influência de fatores que possam alterar o comportamento mecânico dessas estruturas biológicas. Neste trabalho, os conceitos envolvidos na concepção do ensaio Energia Total de Ruptura foram estudados utilizando-se segmentos íntegros do cólon descendente de ratos. O ensaio Energia Total de Ruptura mostrou-se eficiente para quantificar a resistência mecânica dos espécimes demonstrando ser um método adequado para a avaliação do comportamento físico-mecânico intestinal de ratos.*

1. Introdução

A ruptura da parede intestinal promove o extravasamento do material fecal encontrado em seu interior para a cavidade abdominal ocasionando complicações graves [Fagundes 1990]. Dentre as etiologias mais importantes que ocasionam esses reveses destacam-se as deiscências de anastomoses, as inflamações da parede intestinal e as lesões com armas brancas e de fogo [Klug et al. 2003, Wu 2003]. Independentemente da causa, a infecção intra-abdominal originada pelo extravasamento das fezes resulta em elevados

índices de mortalidade e morbidade [Fagundes 1990]. Além dos índices de mortalidade, os níveis de morbidade são também preocupantes, pois interferem na saúde dos pacientes repercutindo diretamente na dinâmica familiar e nas atividades sociais e econômicas. Decorrente a esses fatos, diversos estudos são direcionados para o entendimento da ação de distintos fios de sutura, de antibióticos, de anti-inflamatórios, de aderências intestinais, entre outros fatores que possam afetar beneficemente ou de modo negativo a resistência intrínseca do intestino.

Diversos parâmetros e modelos experimentais podem ser utilizados para avaliar a influência dessas variáveis no comportamento mecânico intestinal. Uma das metodologias mais aplicadas consiste na utilização de ensaios biomecânicos, os quais têm por finalidade determinar a resistência intrínseca desse material biológico quando submetido a um carregamento externo [Watters et al. 1985, Nieri 1999, Mansson et al. 2002]. Dentre esses ensaios, são utilizados testes uniaxiais e biaxiais tais como pressão de explosão, força de ruptura à tração, tensão de ruptura e tensão resultante final de ruptura à tração [Hendriks and Mastboom 1990, Nieri 1999, Wu 2003]. No entanto, esses testes não caracterizam de modo integral o comportamento mecânico desses materiais biológicos pois, características essenciais como tempo de ruptura e alongação do espécime não são considerados na obtenção dessas grandezas físicas.

Diante da necessidade de uma avaliação mais completa do comportamento desses materiais, considerados viscoelásticos não lineares, anisotrópicos e com morfologia heterogênea [Fung 1993], torna-se importante o estudo e o desenvolvimento de novas metodologias experimentais que permitam uma avaliação mais eficiente da resistência mecânica desses tecidos biológicos. Nesse contexto, foi desenvolvido, em uma parceria entre o Laboratório de Bioinformática - LABI - da Universidade Estadual do Oeste do Paraná e o Serviço de Coloproctologia da Universidade Estadual de Campinas, o ensaio biomecânico Energia Total de Ruptura. Neste trabalho, será realizado o estudo dos conceitos físicos envolvidos na concepção desse teste, utilizando-se corpos de prova representados por segmentos do cólon descendente de ratos.

2. Materiais e Métodos

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA-IB-Unicamp, segundo os princípios éticos adotados pelo colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Foram utilizados 10 ratos machos provenientes do Centro de Bioterismo da Unicamp, linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), massa corporal variando de 300 a 350 gramas, idade aproximada de 120 dias e criados sob condições ambientais e alimentares semelhantes. A eutanásia foi realizada por meio de dose letal de pentobarbital sódico 3% (Hypnol-Fontoverter[®]) através da veia caudal. Após esse procedimento, a cavidade abdominal era aberta por incisão de quatro centímetros e retirado, de cada animal, quatro centímetros de cólon descendente a partir da reflexão peritoneal. Posteriormente, esses espécimes devidamente limpos, foram submergidos em uma solução contendo cloridrato de papaverina e solução fisiológica 0,9% a uma concentração de 250 miligramas por litro e temperatura de 37 graus Celsius.

Após a retirada da solução, a extremidade proximal de cada espécime era atada a um canhão de cateter de teflon número 18 com luz aberta e a extremidade distal, a outro canhão semelhante, apresentando luz vedada e com presença de distorcedor. As amarras

foram feitas com fio de seda um zero de modo que a região da alça submetida à tração apresentava 1,5 cm de extensão, valor esse verificado com auxílio de paquímetro em todos os espécimes antes da realização do ensaio de tração (Figura 1).

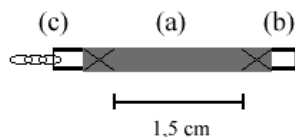


Figura 1. Representação esquemática: (a) Segmento de cólon, (b) canhão nº 18 com luz aberta e (c) canhão nº 18 com luz vedada e fixada em distorcedor

O ensaio biomecânico Energia Total de Ruptura é constituído pelos seguintes componentes (Figura 2):

- Sistema de tração da bomba de infusão B.Braun / Modelo 871.012 (Figura 2-a);
- Gancho de aço inoxidável (Figura 2-b);
- Canhão de cateter endovenoso de teflon número 18 com luz vedada e fixada em distorcedor (Figura 2-c);
- Canhão de cateter endovenoso de teflon número 18 com luz aberta (Figura 2-d);
- Torneira com tripla-via com a extremidade fixada em distorcedor (Figura 2-e);
- Balança de precisão Mettler-Toledo / Modelo SB800 (Figura 2-f);
- Célula de carga da balança de precisão (Figura 2-g);
- Alavanca de conexão da célula de carga da balança com o sistema de tração (Figura 2-h);
- Saída serial da balança de precisão (RS232) (Figura 2-i);
- Cabo de comunicação serial (Figura 2-j);
- Microcomputador PC padrão com canal de comunicação serial (Figura 2-l);
- Cateter de polietileno (P.E. 80) - 50 centímetros de comprimento (Figura 2-m);
- Seringa de plástico - Nipro® (10 ml) contendo solução fisiológica e posicionada no transdutor do polígrafo (Figura 2-n);
- Polígrafo Siemens-Elema / Modelo 804 Mingograft (Figura 2-o);
- Aplicativo SABI 2.0 - Sistema de Aquisição e Análise de Dados Biomecânicos.

Após o posicionamento do corpo de prova no sistema, a torneira de tripla-via era aberta nas três direções e a solução fisiológica contida na seringa era lentamente infundida preenchendo assim, o cateter de polietileno, a via lateral da torneira de tripla via e o segmento de alça cólica. Por meio desse procedimento, as bolhas de ar contidas no sistema eram eliminadas e com o posicionamento do fluxo da torneira de tripla-via nas direções lateral e inferior, o segmento de alça e suas conexões eram transformados em um sistema de vasos comunicantes em relação ao polígrafo. Com isso, realizou-se um balanço no polígrafo, tomando essa situação como linha de base zero no registro gráfico da pressão.

Em seguida, a balança de precisão era tarada e o movimento de tração era iniciado a uma velocidade constante de um centímetro por minuto. Conseqüentemente, as forças axiais crescentes aplicadas sobre o segmento de alça cólica eram captadas pela célula de carga da balança de precisão e enviadas, a uma frequência média de três dados por segundo, ao microcomputador, no qual encontrava-se instalado o sistema SABI 2.0 [Voltolini et al. 2003]. Esse sistema computacional delineava, em tempo real, a curva Força \times Tempo de aquisição até o instante de ruptura do espécime (Figura 3).

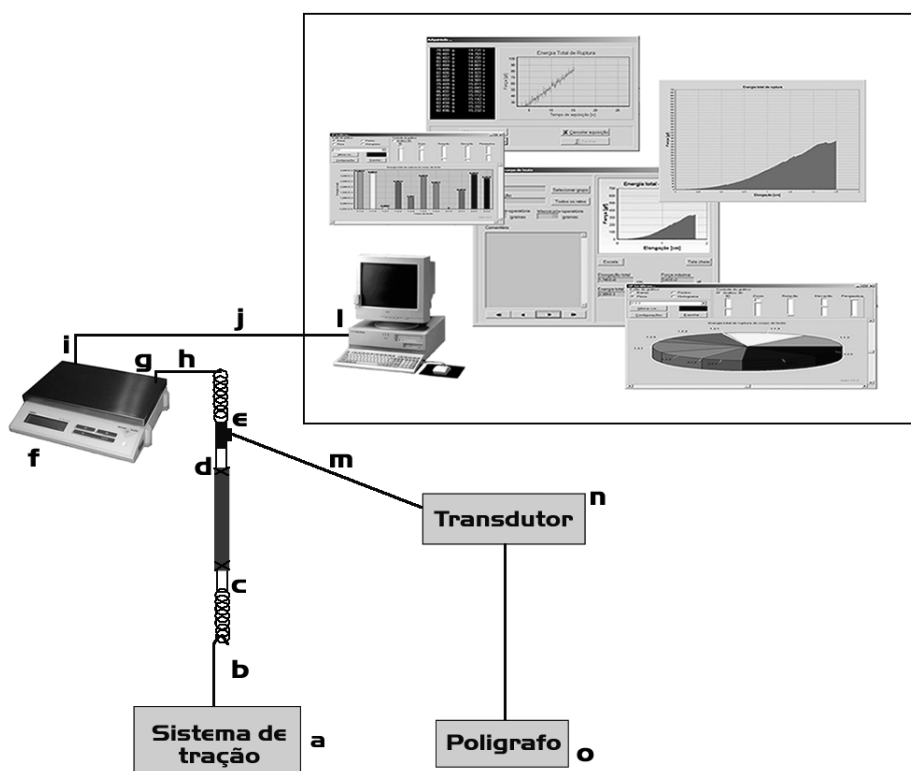


Figura 2. Representação esquemática do Teste Biomecânico Energia Total de Ruptura [Wu et al. 2004]

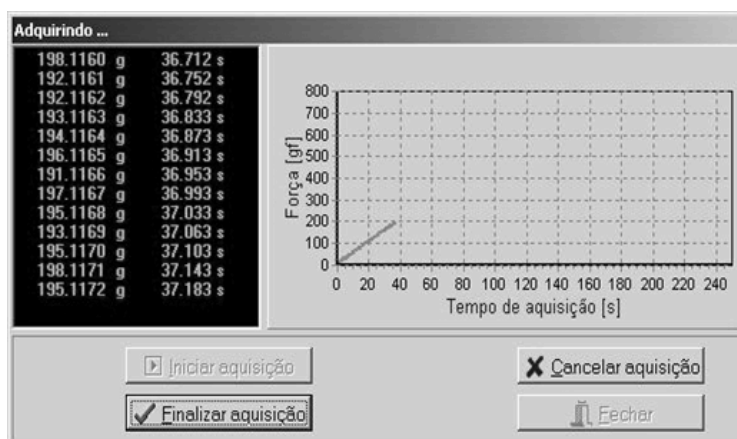


Figura 3. Tela do aplicativo SABI 2.0 durante o ensaio de tração [Voltolini et al. 2003]

Nesse momento, ocorria a finalização da aquisição dos dados e o SABI 2.0 convertia, automaticamente, o atributo tempo em alongação, gerando assim a curva Força \times Alongação, representativa do comportamento mecânico do espécime.

Desse modo, o aplicativo SABI 2.0 quantifica a energia acumulada necessária para promover a ruptura do corpo de prova sob teste. Esse atributo é denominado energia total de ruptura e é obtido por meio do cálculo da área do gráfico Força \times Alongação gerado durante o ensaio. O aplicativo SABI 2.0 calcula essa grandeza por meio de integralização

numérica Regra dos Trapézios (Figura 4).

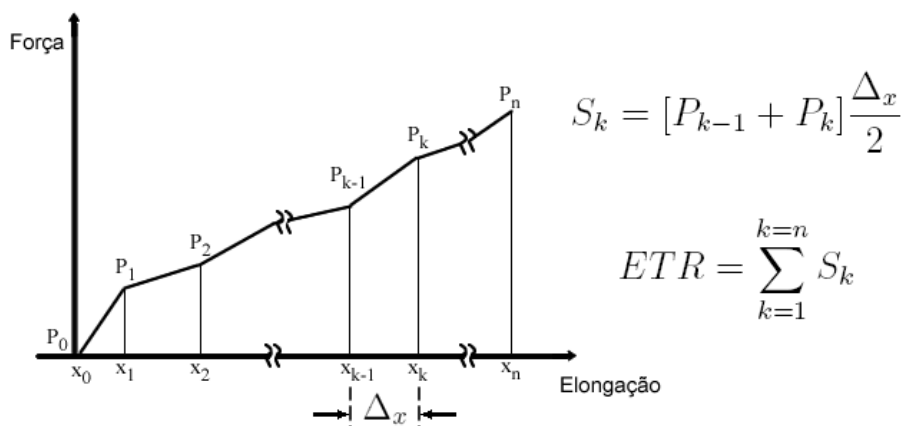


Figura 4. Representação esquemática da Regra dos Trapézios

O polígrafo foi utilizado para auxiliar na identificação do momento de ruptura do espécime. A Figura 5 apresenta um exemplo de registro gráfico (Pressão × Tempo) no qual é identificado o instante em que ocorreu a ruptura do corpo de prova. Esse instante é caracterizado pela queda abrupta da curva, decorrente ao extravasamento do líquido no local em que o rompimento ruptura do segmento de cólon descendente.

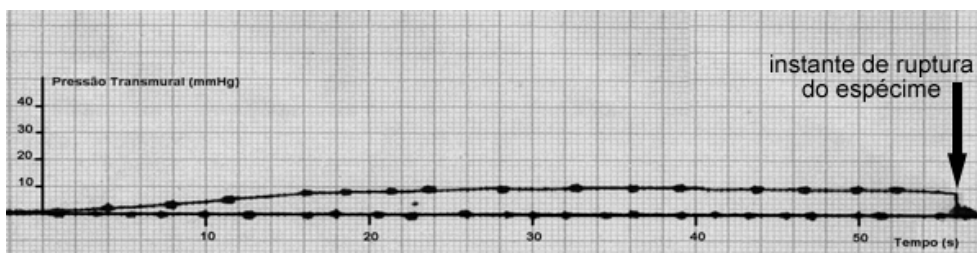


Figura 5. Registro gráfico da pressão no interior do corpo de prova em função do tempo, com a indicação do instante de ruptura do espécime (seta)

3. Resultados

A Figura 6 apresenta um exemplo de curva Força x Elongação obtida durante os experimentos. Os valores da energia total de ruptura para todos os espécimes estão apresentados na Tabela 1 e na Tabela 2 enquanto os valores da média, do desvio padrão, do erro padrão e dos valores máximo e mínimo estão representados na Tabela 3.

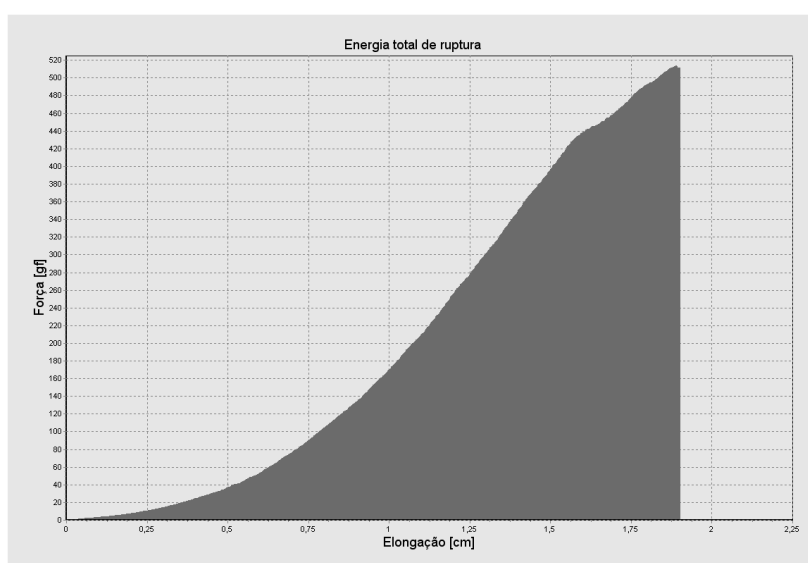


Figura 6. Apresentação de gráfico obtido pelo SABI 2.0

Tabela 1. Valores da energia total de ruptura ETR (espécime 1 ao 8)

Rato	1	2	3	4	5	6	7	8
ETR [gf.cm]	195,4	200,1	284,5	306,4	347,7	258,6	347,6	313,0

Tabela 2. Valores da energia total de ruptura ETR (espécime 9 ao 15)

Rato	9	10	11	12	13	14	15
ETR [gf.cm]	386,8	388,8	241,2	276,2	289,4	301,1	239,0

Tabela 3. Valores da média, do desvio padrão, do erro padrão e dos valores máximo e mínimo da ETR dos espécimes avaliados

	Média	Desvio-padrão	Erro-padrão	Máximo	Mínimo
ETR [gf.cm]	291,7	59,7	15,4	388,8	195,4

4. Discussões

A importância em se estudar o comportamento mecânico de alças intestinais, está relacionada às complicações geradas pelo extravasamento do material fecal contido em seu interior para a cavidade abdominal [Fagundes 1990]. Nesse contexto, diversos parâmetros e modelos experimentais foram desenvolvidos com a finalidade de avaliar as propriedades físico-mecânicas apresentadas pelo tecido intestinal [Fagundes 1990, Nieri 1999, Wu 2003]. Esses testes determinam a resistência intrínseca acumulada da parede intestinal quando submetida a um esforço externo e auxiliam pesquisadores no estudo de variáveis que interferem, por exemplo, no processo de cicatrização desse material

biológico. Dentre esses ensaios, frequentemente são utilizados testes uniaxiais e biaxiais tais como pressão de explosão, força de ruptura à tração, tensão de ruptura e tensão resultante final de ruptura à tração [Fagundes 1990, Hendriks and Mastboom 1990, Nieri 1999, Wu 2003].

No entanto, independentemente do método aplicado, todos os testes são passíveis de críticas. Sendo assim, o método a ser utilizado deve minimizar o número de variáveis que possam interferir na obtenção de resultados precisos e completos. Neste trabalho, para a avaliação da resistência mecânica da parede intestinal, foi utilizado o teste Energia Total de Ruptura [Wu et al. 2004]. Durante o desenvolvimento desse ensaio biomecânico alguns dispositivos foram modificados baseados em conceitos físicos com o objetivo de contornar as variáveis que poderiam interferir na precisão dos resultados.

Antes da realização do ensaio biomecânico, cada espécime era submergido, por trinta minutos, na solução contendo soro fisiológico e cloridrato de papaverina. Por meio desse procedimento, as contrações espasmódicas decorrentes ao manuseio eram atenuadas, minimizando a interferência desse atributo na obtenção dos resultados. Outro aspecto avaliado, foi a maneira de fixação das extremidades da alça intestinal no sistema de tração. Na maioria dos ensaios biomecânicos existentes, os corpos de prova são fixados ao sistema de tração por meio de garras ou prensas universais [Hendriks and Mastboom 1990, Nieri 1999]. Esses dispositivos podem danificar a parede do intestino. Além desse fato, o posicionamento não paralelo desses componentes em relação às extremidades do corpo de prova e perpendicularmente em relação ao sentido do movimento de tração, proporciona distribuição desigual da força aplicada sobre os pontos pertencentes à área de secção transversal que contém o ponto de ruptura do espécime. Para contornar esses efeitos, no teste biomecânico Energia Total de Ruptura, as extremidades do corpo de prova foram atadas em canhões de cateter número 18 e, posteriormente, o corpo de prova juntamente com os canhões de cateter, eram posicionados no sistema de tração por meio de distorcedores. Esses dispositivos permitem que os espécimes não sofram torção durante o teste, atenuando assim a influência da tensão de cisalhamento originada por essa solicitação mecânica.

Após o posicionamento do corpo de prova, infundia-se solução fisiológica no interior do cateter de polietileno, da torneira de tripla via e do espécime. Esses procedimentos proporcionam a preservação da morfologia tubular da alça durante o ensaio e auxiliam na identificação exata do momento de ruptura da parede do segmento intestinal. De acordo com o Princípio de Pascal, a pressão gerada no interior desse sistema de vasos comunicantes distribui-se de forma homogênea em todos os pontos pertencentes à região intraluminal do sistema. Como pode ser observado na Figura 5, a pressão na região interna do sistema de vasos comunicantes apresenta elevação no início do movimento de tração até atingir um platô, no qual permanece até o instante de ruptura. A ascendência inicial da curva se deve à constrição da alça, fenômeno esse que tende a comprimir o líquido contido no interior do sistema durante o movimento de tração devido à tentativa de manutenção do estado de isovolumetria do sistema de vasos comunicantes. No entanto, após período de elevação, a pressão no interior do sistema torna-se praticamente invariável em relação ao tempo. Esse fenômeno ocorre pois existe uma compensação entre o aumento do comprimento do espécime e a diminuição da espessura e do raio da parede intestinal, mantendo a pressão intraluminal praticamente constante. Desse modo, no momento de ruptura, a

pressão sofre queda abrupta indicando assim a finalização do ensaio.

Existem métodos que avaliam a resistência mecânica intestinal nos quais a solicitação externa é efetuada até o limite de proporcionalidade ou até a completa ruptura do espécime [Hendriks and Mastboom 1990, Nieri 1999]. No entanto, na prática cirúrgica em sistema digestório, nota-se que complicações operatórias podem ocorrer com a ruptura parcial da parede intestinal. Logo, acredita-se que o atributo energia total de ruptura, provavelmente, quantifique de modo mais adequado a resistência mecânica do segmento de cólon sob teste, pois o delineamento da curva Força \times Elongação obtida durante o teste biomecânico, é realizado até o momento exato do rompimento pontual da parede da alça.

Grande parte dos materiais em engenharia tem o comportamento caracterizado por curvas Tensão \times Deformação obtidas através de ensaios de tração [Popov 1978]. Por meio da análise dessas curvas podem ser determinados diversos atributos do material ensaiado como módulo de elasticidade, limite de ruptura à tração e tenacidade [Souza 1982]. Baseados nesses conceitos, ensaios biomecânicos foram desenvolvidos anteriormente [Watters et al. 1985, Nieri 1999], de modo que curvas Tensão \times Deformação eram delineadas para corpos de prova representados por segmentos intestinais de ratos, permitindo assim a obtenção de atributos como módulo de elasticidade e energia de ruptura do espécime. Essa energia de ruptura, também chamada de tenacidade, corresponde ao valor da área sob a curva Tensão \times Deformação e representa a quantidade de energia absorvida por unidade de volume do espécime ($gf.cm/cm^3$) até o rompimento do corpo de prova. Entretanto, para a determinação do atributo tensão, é necessário o valor da área de secção transversal do espécime no ponto de maior solicitação mecânica, durante todo o processo de deformação. Esse fato dificulta a obtenção do atributo tensão, pois quando o segmento de intestino é submetido à imposição de uma força axial externa de tração, a espessura da parede do corpo de prova em toda região submetida à tração varia continuamente, alterando assim, o valor da área concomitantemente em relação ao tempo decorrido do ensaio. Por outro lado, o teste biomecânico Energia Total de Ruptura se apresenta de modo independente em relação à medição da área de secção transversal do corpo de teste, visto que o atributo energia total de ruptura depende diretamente da força atuante no espécime durante o processo de deformação elasto-plástico. O atributo energia total de ruptura corresponde ao valor da área da curva Força \times Elongação obtida durante o teste biomecânico e representa a energia total acumulada pelo espécime necessária para promover a ruptura do corpo de prova em grama-força centímetro ($gf.cm$) ou Joules ($N.m$).

O teste Energia Total de Ruptura está fundamentado no Princípio Universal da Conservação de Energia e por estar baseado em conceitos físicos, biomecânicos e computacionais, acredita-se que esse teste biomecânico avalie de modo mais completo o comportamento da alça intestinal quando submetida a um esforço axial de tração variável com o tempo. Além disso, as curvas geradas pelo teste Energia Total de Ruptura podem também ser utilizadas em estudos que buscam a determinação de equações constitutivas capazes de representar matematicamente o padrão de deformação desses materiais biológicos [Niz et al. 2006, Burin et al. 2007].

5. Conclusão

O ensaio Energia Total de Ruptura, fundamentado em conceitos físico-mecânicos, mostrou-se capaz de avaliar o comportamento da resistência mecânica dos segmentos cólicos de ratos demonstrando ser um método eficiente para a verificação da resistência mecânica intestinal.

Agradecimentos

Ao Programa de Desenvolvimento Tecnológico Avançado — PDTA/FPTI-BR — pelo auxílio por meio da linha de financiamento de bolsas.

Referências

- Burin, E. L. K., Niz, M. A. K., Silva, M. C. C., Lee, H. D., Coy, C. S. R., Fagundes, J. J., Góes, J. R. N., e Wu, F. C. (2007). Avaliação do modelo sigmoidal de Boltzmann na predição do comportamento mecânico de material biológico com propriedade viscoelástica não linear. In *VII Workshop de Informática Médica*, Porto de Galinhas, PE.
- Fagundes, J. J. (1990). *Estudo comparativo da cicatrização de anastomoses cólicas realizadas com auxílio do bisturi laser de dióxido de carbono: trabalho experimental em cães*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Fung, Y. C. (1993). *Biomechanics - Mechanical properties of living tissues*. Springer-Verlag Inc., New York, NY, 2 ed.
- Hendriks, T. e Mastboom, W. J. B. (1990). Healing of experimental intestinal anastomoses. *Diseases of the Colon & Rectum*, 33:891–901.
- Klug, W. A., Bin, F. C., Valezi, A. C., e Capeluchinick, P. (2003). Tratamento cirúrgico de ferimentos do cólon: Análise de 432 pacientes. *Rev bras Coloproct*, 23(2):82–88.
- Mansson, P., Zhang, X. W., Jeppsson, B., e Thorlacius, H. (2002). Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis*, 17:420–425.
- Nieri, T. M. (1999). *Estudo sobre o comportamento mecânico do cólon íntegro e com anastomose. Trabalho experimental em ratos*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Niz, M. A. K., Burin, E. L. K., Wu, F. C., Lee, H. D., Nogueira, F. M. A., Fagundes, J. J., e Góes, J. R. N. (2006). Utilização dos modelos matemáticos de Boltzmann, de Chapman e Logístico para o estudo do comportamento mecânico de segmentos de cólon descendente de ratos. In *X Congresso Brasileiro de Informática em Saúde*, Florianópolis, SC.
- Popov, E. P. (1978). *Introdução à Mecânica dos Sólidos*. Edgard Blucher, São Paulo, SP, 2 ed.
- Souza, S. A. (1982). *Ensaio mecânicos de materiais metálicos. Fundamentos teóricos e práticos*. Edgard Blucher, São Paulo, SP, 5 ed.
- Voltolini, R. F., Metz, J., Machado, R. B., Lee, H. D., Fagundes, J. J., e Góes, J. R. N. (2003). Sabi 2.0: Um sistema para a realização de teste biomecânico em material viscoelástico não linear. In *4th Congress of Logic Applied to Technology*, Marília, SP.

- Watters, D. A. K., Smith, A. N., Eastwood, M. A., Anderson, K. C., e Elton, R. A. (1985). Mechanical properties of the rat colon: the effect of age, sex and different conditions of storage. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 70:151–162.
- Wu, F. C. (2003). *Estudo dos efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperoxigenação hiperbárica sobre anastomose cólica comprometida ou não pela isquemia: Trabalho experimental em ratos*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Wu, F. C., Lee, H. D., Machado, R. B., Dalmás, S., Coy, C. S. R., Góes, J. R. N., e Fagundes, J. J. (2004). Apresentação do teste energia total de ruptura para avaliação de material biológico com propriedade viscoelástico não-linear. *Acta Cir Bras [serial online]* Nov - Dez; 19(6). Disponível em URL:<http://www.scielo.br/acb>.