

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICAS EM
ESTRUTURA DO TECIDO ÓSSEO DE EQUINOS.**

PAULO DE TARSO VIANNA NOGUEIRA FILHO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

BOTUCATU – SP

2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICAS EM
ESTRUTURA DO TECIDO ÓSSEO DE EQUINOS.**

PAULO DE TARSO VIANNA NOGUEIRA FILHO

Orientadores: Prof. Dr. Marcos Antonio de Rezende
Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

BOTUCATU – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Nogueira Filho, Paulo de Tarso Vianna.

Análise das propriedades físicas em estrutura do tecido ósseo de eqüinos /
Paulo de Tarso Vianna Nogueira Filho. - Botucatu [s.n], 2008.

Trabalho de conclusão (bacharelado – Física médica) – Universidade
Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008

Orientador: Marcos Antonio de Rezende

Co-Orientador: Vladimir Eliodoro Costa

1. Física médica 2. Eqüino - Diagnóstico 3. Densidade óssea

Palavras-chave: Densidade óssea; Coeficiente mássico de atenuação da
radiação gama; Método de imersão; Porosidade óssea; Retratibilidade volu-
métrica;

Dedico aos meus pais
Paulo de Tarso Vianna Nogueira e
Maria Fátima de Souza Nogueira

*“Se você não puder ser um pinheiro no topo da colina,
seja um arbusto no vale –
mas seja o melhor arbusto à margem do regato.”*

Douglas Malloch.

Agradecimentos

Agradeço aos meus mestres Prof. Dr. Marcos Antônio de Rezende e Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa pela confiança e amizade depositada durante todo o planejamento, desenvolvimento e conclusão deste trabalho, a Giuseppina Pace Pereira Lima pela especial atenção dada como supervisora em todo estágio e também a Edson M. Bruder por acompanhar todos os passos deste trabalho dentro do laboratório, contribuindo para seu melhor aproveitamento.

A minha família Paulo Nogueira, Maria Fátima, Mariana, Alberto, Sônia, José (*in memória*), Jacinta (*in memória*), Nina, Thiago e Henrique pelo apoio inverossímil e indulgente.

A minha namorada e amiga Elisangela Coelho pelo apoio permanente, tolerância e orientação nos momentos que desviei do caminho a seguir e também aos amigos Leonardo, Milena, Pedro etc.

Aos Departamentos de Física e Biofísica, Isótopos Estáveis, Bioestatística do Instituto de Biociências – UNESP campus Botucatu e seus laboratórios por dispor as ferramentas necessárias para a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zoologia – UNESP campus Botucatu pelo fornecimento das amostras necessárias para realização deste trabalho.

Aos professores Joel Mesa Hormaza e Roberto Morato Fernandes que me ensinaram muito sobre trabalho experimental e também pelas observações e sugestões feita no trabalho assim como a todos professores presentes em minha formação acadêmica.

Aos colegas das repúblicas, graduação, trabalho e laboratório: Cyro (disgraçado), Henrique (xups), Thiago (birósca), Diogo (pena), Vicente, Francisco, Tatiane (impatafóda), Carol (venkikando), Murillo (miracú), Eduardo (rasgado), Dany (lemão), Péricles (testa), Guilherme (parente), Rodrigo (pangolino), Milton (fagner), Henrique (kelvin), Beatriz (tilambo), Ernesto (montito), Paulo Ramos, Cilene, Murilo, Fabiano, José Ricardo, Paulo Mancera, Claudia Pelizon, chokito etc. que estiveram presente comigo durante todo ou quase todo desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1. Resumo	9
2. Summary.....	10
3. Introdução.....	11
4. Revisão Bibliográfica	13
4.1. Tecido ósseo	13
4.2. Características físicas do tecido ósseo.....	14
4.3. Método de Atenuação da radiação gama.....	15
4.4. Radiação <i>versus</i> Matéria.....	17
4.5. Quantificação óssea	18
5. Materiais e Métodos	20
5.2. Conjunto experimental de atenuação da radiação gama.....	23
5.2.1. Caracterização geral	23
5.2.2. Sistema de detecção.....	26
5.2.3. Calibração.....	27
5.3. Método de imersão, retratibilidade, umidade e porosidade.....	27
5.3.1. Caracterização geral	27
5.4. Metodologia experimental.....	28
5.4.1. Medidas utilizando o método de atenuação da radiação gama.....	29
5.4.2. Medidas de massa, volume e retratibilidade.....	30
5.4.3. Medidas de Porosidade.....	31
5.5. Condições de Umidade Estudadas.....	32
6. Resultados.....	34
6.1. Estudo preliminar	34
6.2. Estudo das epífises	36
6.3. Amostras.....	37
7. Discussões	43
7.1. Estudo das epífises	43
7.2. Amostras.....	44
8. Conclusões.....	49
9. Referências Bibliográficas.....	50
Apêndice A.....	53

	Página
Apêndice B	56

1. Resumo

Este projeto tem vários objetivos:

Determinar valores médios e variações da densidade, porosidade, umidade, retratibilidade volumétrica e do coeficiente de atenuação de massa da radiação gama de 59,6 keV do radioisótopo ^{241}Am , utilizando amostras de rádio equino, em crescimento e adulto. As amostras de ossos foram fornecidas pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP campus Botucatu. Foram utilizados ossos das patas dianteiras esquerda de dois machos. De cada osso foram retiradas dez amostras. Essas amostras foram preparadas para obter apenas tecido ósseo compacto, sendo submetidas ao ensaio de determinação da densidade pelo método de imersão em água e determinação do coeficiente de atenuação linear pelo método de atenuação da radiação do ^{241}Am , obtendo também seu teor de umidade. Ainda, foram obtidas novas amostras a partir das amostras moídas e verificada a densidade das partículas presente nas amostras, obtendo o valor médio do coeficiente de atenuação de massa. Os resultados mostraram os valores médios e variações estatisticamente significativas da densidade, porosidade, umidade, retratibilidade volumétrica e coeficiente de atenuação de massa da radiação gama de 59,6 keV do radioisótopo ^{241}Am nas amostras, estabelecendo algumas relações dos parâmetros físicos determinados com aspectos biológicos e possíveis influências existentes entre eles.

Palavras-chave: Densidade óssea, Coeficiente mássico de atenuação da radiação gama, Método de imersão, Retratibilidade volumétrica, Porosidade óssea.

2. Summary

This project has several objectives:

To determine medium values and variations of the density, porosity, humidity, shrinkage volume and the coefficient of mass attenuation of gamma radiation of 59,6 keV of the radioisotope ^{241}Am , using samples of equine radio, in growth and adult. The samples of bones were supplied by the Department of Pathology of University of Veterinary Medicine and Zootechnics - UNESP campus Botucatu. Bones of the paws front left of two males were used. Of each bone ten samples were removed. Those samples were prepared to just obtain compact bony fabric, being submitted to the rehearsal of determination of the density by the immersion method in water and determination of the coefficient attenuation lineal for the method of attenuation of the radiation of the ^{241}Am , also obtaining your humidity content. Still, they were obtained new samples starting from the ground samples and verified the density of the particles present in that, obtaining the medium value of the coefficient of mass attenuation. The results showed the medium values and significant statistical variations of the density, porosity, humidity, shrinkage volume and coefficient of mass attenuation of gamma radiation of 59, 6 keV of the radioisotope ^{241}Am in the samples, establishing some relationships between of the certain physical parameters with biological aspects and possible existent influences between them.

Key Words: Bone density, coefficient of mass attenuation of gamma radiation, Immersion method, shrinkage volume, Bone porosity.

3. Introdução

O conhecimento das propriedades físicas dos materiais, tais como densidade, umidade, porosidade e retratibilidade são extremamente importantes para o estudo de suas estruturas e está relacionado com seus parâmetros de qualidade.

As propriedades físicas dos ossos nos mostram relações importantes da variação do metabolismo. Para determinação dessas propriedades físicas, algumas técnicas radiológicas têm sido utilizadas como a técnica de atenuação da radiação gama e dos raios-x que vem sendo empregada com sucesso em diversas áreas e tem uma grande aplicação em pesquisas da área médica e principalmente para a densidade óssea. [6]

Estas técnicas baseiam-se na transmissão, absorção ou espalhamento da radiação quando esta atravessa um corpo material se destacando como uma importante ferramenta de apoio ao estudo físico e clínico de materiais biológicos, estando principalmente ligada aos estudos médicos devido a forte influência sofrida pelos tecidos biológicos diante alterações do metabolismo. Dentre os métodos radiológicos, estão presentes ainda a Absorciometria de fótons mono energéticos, de duplo feixe, de raios-x de energia simples e dupla, densidade radiográfica e tomografia computadorizada. [1,4]

O coeficiente de atenuação linear da radiação, numericamente igual à fração do número de fótons removidos de um feixe por centímetro de absorvedor e o coeficiente de atenuação de massa da radiação, dado em função da área por comprimento do caminho percorrido pelo fóton, são propriedades físicas que nos mostram relações importantes da variação do conteúdo mineral ósseo com algumas doenças e variações do metabolismo. Além destas, outras propriedades físicas como densidade, umidade, retratibilidade e porosidade possuem ligação com aspectos biológicos. [4,19,20]

Delineados como importantes propriedades físicas de materiais, a porosidade, retratibilidade, densidade, umidade e coeficientes de absorção são relacionados a diversas áreas da física, química e engenharia. [4,9,11]

Proposto inicialmente por Cameron and Sorenson (1963), a análise da densidade óssea por meio do método de atenuação da radiação gama sofreu modificações tecnológicas a fim de melhorar sua precisão quando comparado a outros métodos e quanto à energia de radiação empregada. [2,3]

O estudo destas propriedades em amostras ósseas se mostrou importante devido à ligação destas a remodelação óssea. Este processo contínuo é feito através da ação das células ósseas. Esta remodelação depende de fatores externos e internos tornando o osso um tecido dinâmico, onde, exceto nos ossos em crescimento, as taxas de deposição e de absorção óssea são proporcionais para manter constante a massa total do osso.

Este desequilíbrio pode causar uma diminuição da densidade mineral óssea e conseqüente variação das propriedades físicas do osso e são conseqüências de alterações nutricionais, enzimáticas e hormonais. Patologias como; à osteoporose, osteomalácia e artrite reumática, além de algumas drogas, alteram as funções metabólicas do sistema esquelético, resultando em uma também variação do conteúdo mineral do tecido.

Assim, o uso clínico de métodos radiológicos vem se mostrando importante a estudos de propriedades estruturais que estão ligadas a fenômenos biológicos e variações em parâmetros físicos no tecido ósseo.

Logo, este trabalho teve como objetivos determinar os valores médios e suas variações das propriedades físicas como: densidade; porosidade; retratibilidade volumétrica e coeficiente de atenuação de massa de 59,6 keV do tecido ósseo de equino.

4. Revisão Bibliográfica

4.1. Tecido ósseo

Denominado de tecido conjuntivo vascular, constituído de células e matriz intercelular calcificada, pode se caracterizar denso (compacto) ou esponjoso (trabecular). O osso esponjoso, encontrado no interior das epífises ou cabeças de ossos longos, é sempre envolvido por osso compacto. O osso esponjoso é assim chamado por apresentar grandes espaços abertos rodeados por placas ósseas que se anastomosam. O osso compacto é muito mais densa do que o osso esponjoso, sendo seus espaços muito menores e sua organização muito mais precisa e desenvolvida. [21]

A matriz intercelular calcificada é constituída basicamente de bases inorgânicas (minerais) e bases orgânicas (proteínas) se mostrando um tecido muito desenvolvido e importante no controle de diversos fenômenos como, por exemplo, suporte de reserva iônico, hemopoiese, além de sustentação e proteção. [21]

Distribuídas em fibras organizadas de forma a darem maior sustentação a tensões aplicadas ao longo do osso, a base orgânica é constituída de colágeno, representando valores na ordem de 90% da constituição total e se mostrando uma proteína importante no processo de mineralização óssea. A base inorgânica é composta fundamentalmente de Cálcio e Fósforo sob a forma de fosfato de cálcio, agrupados para a formação de estruturas cristalinas semelhantes à hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ que são depositadas diante as fibras de colágeno no osso. [14]

Caracterizado como um tecido dinâmico, este se depara com constantes mudanças estruturais gerado pelos processos de crescimento, modelação e remodelação do osso. Destaque para as mudanças de forma, tamanho, disposição estrutural e quantidade está o crescimento do tecido, ficando para a modelação apenas as mudanças a nível microscópico como orientação espacial das fibras de colágeno para melhoramento de resistência óssea. A remodelação, predominante no tecido ósseo trabecular devido a maior área de contato entre o tecido mineralizado e o tecido orgânico, é um processo complexo que envolve quatro fases, está ligado a estímulos externos e internos e se destaca por ser um processo de regeneração espontâneo. [14]

4.2. Características físicas do tecido ósseo

A física do tecido ósseo é a ciência que estuda a matéria óssea e suas interações com o meio. As características físicas que podem definir o grau das interações da matéria óssea com o meio são: a porosidade, que define a porcentagem de vazio dentro do volume aparente; a retratibilidade, que define a variação volumétrica aparente quando alterada a umidade do meio; a densidade real da substância óssea, que define a razão da massa pelo volume real; e a densidade aparente, que quantifica a matéria óssea por unidade de volume aparente. [13]

Quanto ao grau de interações da matéria com a radiação são definidas por propriedades físicas a secção de choque da matéria óssea; os coeficientes de atenuação linear e de massa; a rigidez elétrica, magnética e térmica; flexibilidade e etc. [20]

O estudo destas propriedades físicas possibilitou desde 1963 um grande avanço no conhecimento detalhado de meios materiais fornecendo dados importantes para o desenvolvimento de novas técnicas e o melhoramento de diversas áreas da saúde e indústria e para estudarmos estas propriedades de interesse, algumas definições são importantes.

Para determinação das propriedades físicas que podem definir um grau de interações da matéria óssea com o meio, métodos laboratoriais práticos são empregados, como o método da imersão. Este método baseia-se no princípio de Arquimedes, em que a perda aparente de peso de um corpo imerso em líquido é igual à massa do líquido deslocado. Este método é considerado um dos mais precisos e pode ser usado para amostras com formato irregular, sendo o volume determinado pela variação de peso do líquido, em virtude da imersão da amostra. [13]

A densidade, comumente designada por densidade global ou aparente, representa a quantidade de massa das partículas sólidas que compõem um dado volume total, designado pela somatória dos volumes das partículas, de ar contido nos poros da amostra e de água que possui. Assim, fica evidente que esta nomenclatura leva em consideração a umidade da amostra, sendo exibida pela letra ρ acrescida de um índice inferior direito como valor de umidade da amostra. [13]

A densidade real ou das partículas, é representada pela quantidade de massa das partículas em umidade zero e retratibilidade desconsiderada contida em um volume chamado de volume das partículas, este, obtido sem a consideração dos poros ou água da amostra através do método de picnômetro, onde a amostra é moída e submetida a

testes laboratoriais para determinação do volume de água correspondente a dada massa de amostra utilizada, sendo representada pela letra ρ_0 .

A literatura mostra o método de Arquimedes na determinação da medida de densidade de osso, músculo e gordura, destacando resultados confiáveis. [4,9]

A porosidade, caracterizado como a distribuição de poros ao longo de um volume de um material, pode ser obtida através de métodos nucleares como o espalhamento de raios-x ou a transmissão de raios gama, porém para determinações de porosidade média encontrada em dada amostra, o método convencional ou de Arquimedes se mostra fácil e confiável. [11]

A importância de determinar a porosidade em materiais é ligada a grandes áreas da engenharia, física e química. Através de medidas de porosidade por Atenuação da radiação gama e métodos convencionais, são relatados comparações entre os métodos destacando as vantagens de cada um diante a determinação da porosidade detalhada e total. [11]

A retratibilidade, remetida como a variação percentual do volume de uma amostra com variação da umidade externa, é bem determinada por cálculos simples com dados de volume nos diferentes estados de umidade.

Autores explanam resultados de retratibilidade em materiais lenhosos, mostrando uma importante relação da retratibilidade volumétrica e linear com os parâmetros físicos densidade e umidade. [13]

4.3. Método de Atenuação da radiação gama

Para determinação das propriedades físicas de interesse que podem definir um grau de interações da matéria óssea com a radiação, a utilização do método nuclear de atenuação da radiação gama se comporta de maneira simples e confiável.

Baseado na contagem de feixes de radiação gama transmitidos através de um dado meio material, o método de atenuação da radiação gama se comporta como um método nuclear não destrutivo de diversas aplicações práticas importantes. [13]

Proposto inicialmente através da demonstração feita pela esposa de Roëntgen na radiografia de sua mão em 1895, que mostrou claramente a interação existente entre os feixes de raios-x com os ossos e os tecidos mole. Várias décadas foram necessárias para determinar um consenso de um processo físico adequado para realizar então medidas de atenuação sofrida por determinados materiais. Na década de 70, foi mostrado a transmissão de fótons ficando na época o método pouco utilizado devido ao método da

ativação por nêutrons. [8,10]

Sua utilização permite a medida de parâmetros, tais como: densidade, descrição do grau de homogeneidade e porosidade espacial e temporal em materiais amorfos, além da distribuição espacial dos poros na amostra.

A aplicação do método para determinação de conteúdo mineral ósseo e suas propriedades físicas foi proposto inicialmente por Cameron and Sorenson (1963), realizando o escaneamento com feixe único de baixa energia para verificação da diferença do coeficiente de atenuação de massa de tecido ósseo e mole. Esta publicação se mostrou como essencial evolução já que trocou o feixe poli - energético de raios-x por feixe mono - energético gama, trocou os filmes radiográficos por cristais cintiladores e colimação pesada foi colocada na fonte de radiação e no detector. [10]

A determinação com utilização de fonte de radiação de ^{241}Am o conteúdo mineral e a densidade mineral óssea em amostras de rádio distal, descrevendo um fator exponencial utilizado para correção dos distúrbios intra-ósseos gerados na atenuação da radiação por constituintes orgânicos. [2]

Outros autores definiram resultados de quantidade mineral óssea e densidade óssea obtidas de uma população, mostrando que estes parâmetros estão ligados diretamente a idade e ao sexo, fornecendo um banco de dados importante para estudos de doenças e outros fatores que afetam o conteúdo mineral e a densidade óssea. [3]

Da mesma maneira, são utilizados os métodos simples de atenuação da radiação gama e o método de dois meios no cálculo do coeficiente de atenuação em amostras arqueológicas cerâmicas, concluindo os métodos demonstravelmente adequados para uma boa medida do coeficiente de atenuação linear. [1]

São apresentados ainda importantes valores de coeficiente de atenuação linear e massa em âmbito experimental, utilizando o método de atenuação da radiação gama de ^{131}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e ^{137}Cs ; e calculados para energias de feixes de 1 keV à 10 MeV. [4]

A técnica também é utilizada para determinação de densidade e coeficiente de atenuação de massa em materiais empregados na construção civil. Os dados foram calculados usando simulações de Monte Carlo MCNP4B para energias de 50 – 3000 keV em raios gama que comparados a resultados da literatura se mostraram aceitáveis. [6]

4.4. Radiação versus Matéria

O estudo do comportamento da Radiação na matéria depende da maneira e precisão de como se mede esta radiação. A absorção da radiação depende fundamentalmente do tipo de radiação utilizado: corpuscular ou eletromagnética. O mecanismo de absorção de radiação eletromagnética pela matéria é diferente do mecanismo para partículas carregadas, fato observado através do grande e maior poder de penetração da radiação eletromagnética comparado a partículas carregadas.

Neste aspecto, é fundamental entender como a radiação interage com a matéria de modo a compreender então os processos de funcionamento dos métodos de medidas de energia de radiações.

A radiação eletromagnética, com faixa em radiação gama, possui decréscimo exponencial que ocorre com a intensidade do feixe homogêneo de radiação passando por anteparo material.

Os raios gama alcançam o material a uma intensidade I_0 , ao longo de sua interação com o absorvedor de espessura Δx onde parte é absorvido, emergindo um novo feixe de intensidade I e a variação da intensidade do feixe que atravessou o anteparo material sendo proporcional a espessura e a intensidade do feixe incidente (1):

$$\Delta I = \mu I \Delta x \quad (1)$$

Considerando que cada fóton é independente de todos os outros, a probabilidade média que um fóton seja levado para o outro lado do material é uma constante μ , chamada de coeficiente de atenuação linear, e a taxa de decréscimo da intensidade de um feixe de fótons, $-dI/dx$, é descrita como (2):

$$\frac{-dI}{dx} = \mu I \quad (2)$$

Ao integrarmos obtemos (3):

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \mu x \quad (3)$$

Onde I_0 representa a intensidade de raios gama incidentes e I a intensidade que emerge de um absorvedor de espessura x .

Rearranjando a equação (3), obtemos a equação conhecida como Lei de Lambert – Beer (4).

$$I = I_0 \left(e^{-\mu x} \right) \quad (4)$$

Onde é possível verificar que a intensidade dos raios gama decai exponencialmente com a espessura do absorvedor.

As equações de absorção de raios gama são as mesmas para raios-x, pois ambos os tipos possuem características eletromagnética. Na verdade não é possível a diferenciação entre raios-x e raios gama, sendo estes termos utilizados para distinguir sua origem, já que raios gama são originários de um núcleo atômico enquanto os raios-x são radiações de alta energia resultados de saltos eletrônicos entre as camadas, ou seja, origem atômica ou então produzida por fontes artificiais.

Três processos são os principais responsáveis para a absorção de raios gama, O efeito fotoelétrico, o espalhamento Compton e a produção de pares resultado da interação de raios gama com o campo elétrico do núcleo atômico. Nestes processos de interação com a matéria os fótons gama podem ter sua energia parcialmente ou totalmente dissipada, sendo dependente do valor de sua energia e a forma como este colide com os elementos que constituem o material.

A explicação destes fatos é dada pela mecânica quântica, através da probabilidade de cada processo, onde essa probabilidade pode ser expressa pelo coeficiente de absorção ou através da seção de choque. Assim, o coeficiente de atenuação total é dado pela soma dos coeficientes de absorção dos três diferentes processos.

4.5. Quantificação óssea

Fótons são absorvidos por materiais ou por efeito fotoelétrico ou por produção de pares. Fótons são espalhados ou por interações coerentes ou Compton. Este fato não é imediatamente óbvio quando existe a possibilidade de ocorrência destes quatro processos e devemos apontar aquele mais apropriado para a fundação da técnica para quantificação óssea. Parte da hesitação está sobre a incerteza da variável que necessita ser medida, parte da hesitação está em determinar se estas medidas são melhores nos ossos compacto e trabecular, axial ou apendicular. [10]

Evidencias clinicas sugerem que diversas patologias e/ou variações do metabolismo expressam sua conseqüência em regiões onde é significativa a presença de osso trabecular, como coluna vertebral e fêmur proximal devido a grande área de contato existente entre a área calcificada e o tecido biologicamente ativo, se mostrando evidente na perda da camada de osso compacto. [10]

O início da quantificação óssea clinica através da densitometria foi descrito no ano de 1963 como descritos anteriormente, utilizando a técnica de SPA ou Single Photon Absorptiometry. A medida dos objetos consistia unicamente na distinção de

diferentes materiais em caráter radiológico. Esta limitação se fez presente devido à medida de transmissão do feixe através da amostra fornecer a densidade e número atômico efetivo além de outras propriedades de um único tecido devido a utilização de um único feixe de energia, sendo o colágeno com a hidroxiapatita, considerando-o progresso com seu uso clínico impossível matematicamente. [10]

A otimização para aperfeiçoamento e aplicações clínicas pôde ser feita em vários pontos da técnica. Na energia da fonte do radioisótopo com o compromisso de maximizar a diferença de secção de choque fotoelétrico para materiais ósseo e tecido mole. A uniformidade na espessura do tecido mole e a restrição da baixa energia dos fótons. Assim, as condições básicas para uma aceitação clínica de analisar uma quantidade significativa de osso, porte de peso e trabalhar em regiões de diferentes espessuras mostrou a técnica SPA insatisfatória. [10]

Estas condições determinaram uma linha de evolução das pesquisas da área de modo que todas as condições pudessem ser satisfatórias. Seu início foi introduzido pelo DPA ou Dual Photon Absorptiometry onde a utilização de duas energias eliminou a restrição da utilização apenas em locais periféricos e a necessidade de se realizar as medidas de transmissão em locais adjacentes de mesma espessura. Utilizando radioisótopos como ^{153}Ga , autores abriram possibilidades para aferições em regiões centrais como espinha lombar e fêmur proximal, sendo fortemente aplicado como método clínico na quantificação óssea. [10]

Ainda limitado pelo fato de distinguir apenas objetos composto por dois distintos materiais radiológicos, a idéia de incremento de mais uma faixa de energia para cada restrição imposta pelas propriedades físicas variáveis foi examinada e demonstrada em phantoms, mas nas aplicações *in vivo* se mostraram inúteis devido a pequena diferença entre os coeficientes de atenuação linear dos componentes do tecido mole. [10]

O desenvolvimento final em quantificação óssea foi determinado pela troca da fonte radiativa por tubos de raios-x. O método, chamado de DXA ou Dual Ray-X Absorptiometry, possibilita um incremento de intensidade de fótons, diminuindo drasticamente o tempo de medida. Ainda, o aumento da precisão das medidas imposto pelo aumento da intensidade de fótons e diminuição da probabilidade de movimento do paciente.[10]

5. Materiais e Métodos

O ensaio experimental deste trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Física Aplicada do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista no campus de Botucatu – SP.

5.1. Amostras Ósseas

As amostras utilizadas foram cedidas pelo Departamento de Patologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP no campus de Botucatu – SP, sendo utilizada como amostra o osso rádio.

Os ossos foram retirados do esqueleto apendicular dianteiro esquerdo de dois animais eqüinos do sexo masculino. Designados de ANIMAL 1 e ANIMAL 2, as principais características de cada animal está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Principais características obtidas de cada animal através de ficha individual fornecida pelo Departamento de Patologia da FMVZ UNESP no campus de Botucatu.

	ANIMAL 1	ANIMAL 2
Sexo	Masculino	Masculino
Idade (meses)	72	18
Raça	Quarto-de-milha	Mangalarga
Cor pelagem	Marrom Claro	Misto
Massa Corpórea (Kg)	482	268

Obtidas após óbito dos animais, os ossos passaram por tratamentos de separação para a aquisição de apenas tecido ósseo compacto. O tratamento para obtenção deste tecido foi dividido neste trabalho em duas partes: Limpeza e Confeção.

O processo de limpeza das amostras tem início com sua aquisição. O primeiro procedimento foi à limpeza externa das amostras com retirada parcial dos tecidos moles adjacentes como tecidos muscular esquelético, glandular, gorduroso e cartilaginoso através do uso de lâminas de corte. Após isto, as amostras foram submetidas à maceração, onde os ossos previamente limpos foram deixados em água para retirada total de tecidos externos adjacentes ao tecido ósseo sendo necessário para maceração total e limpeza externa completa das amostras 16 dias em cuba.

O segundo passo no processo de limpeza é a retirada dos tecidos não-ósseos internamente. Para isso as amostras foram cortadas em seu eixo longitudinal com utilização de maquina de corte Black & Decker – Mini de 11000 RPM e novamente

submetidas a cuba com água para o processo de maceração. O processo se mostrou total nestes tecidos ao final de sete dias, onde grande parte da medula óssea presente foi retirada dos ossos.

Com a obtenção apenas do tecido ósseo, composto de osso cortical e trabecular, se iniciou o processo de Confeção das amostras. Este processo se inicia com o corte dos ossos em seu eixo transversal de forma que cada osso resultasse 12 amostras, sendo as duas extremidades não utilizadas nos experimentos. Após o corte, as amostras foram submetidas à lixa para retirada do perióstio e osso trabecular, além de determinar uma linearidade na superfície das amostras. Estes procedimentos foram realizados com a intenção de observar o comportamento das propriedades ao longo de todo o osso cortical e melhorar a qualidade final dos resultados utilizando a técnica de atenuação da radiação gama do ^{241}Am .

Todos os passos necessários para obtenção das amostras podem ser observados pelo diagrama apresentado na Figura 1 e através da Figura 2.

Figura 1. Diagrama descritivo dos procedimentos utilizados para obtenção das amostras de osso compacto rádio.

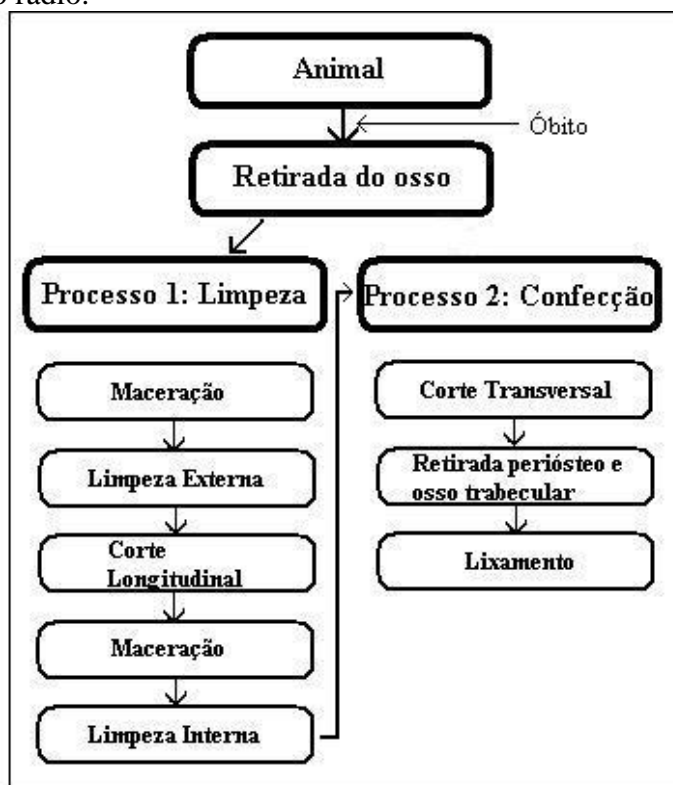




Figura 2. Foto mostrando: a) Osso após Processo 1: Limpeza; b) Osso após Processo 2: Confecção, com divisão da amostra em 12 partes.

Todos estes procedimentos utilizados possibilitaram a obtenção de dez amostras de cada osso rádio de cada animal, designadas neste trabalho pelo conjunto de amostras do ANIMAL 1 (A1, A2, A3... A10) e amostras do ANIMAL 2 (B1, B2, B3... B10).

Ensaio preliminares para a determinação correta da metodologia a ser aplicada no trabalho e sobre a variação de porosidade nos tecidos ósseos compacto e trabecular, foram feitos utilizando amostras do osso compacto de rádio e metacarpo de equino do sexo masculino também do ANIMAL 1 designadas de RII, RIM, RIS e MI e de amostras de epífises de metacarpo de equino do sexo masculino denominadas de $A_{sec.total}$ e $B_{sec.total}$.

As amostras utilizadas no estudo preliminar foram retiradas de acordo com o sentido longitudinal, sendo do osso rádio utilizado três amostras, chamadas Rádio Interno Superior (RIS), Rádio Interno Médio (RIM) e Rádio Interno Inferior (RII) enquanto do osso Metacarpo foi utilizado uma amostra do osso inteiro também no sentido longitudinal, designada no trabalho por Metacarpo Inteiro (MI).

No estudo das epífises, as amostras $A_{sec.total}$ e $B_{sec.total}$ foram retiradas de um osso metacarpo inteiro de um equino através da secção transversal total do osso em cada epífise. A imagem destas amostras pode ser observada na Figura 3.

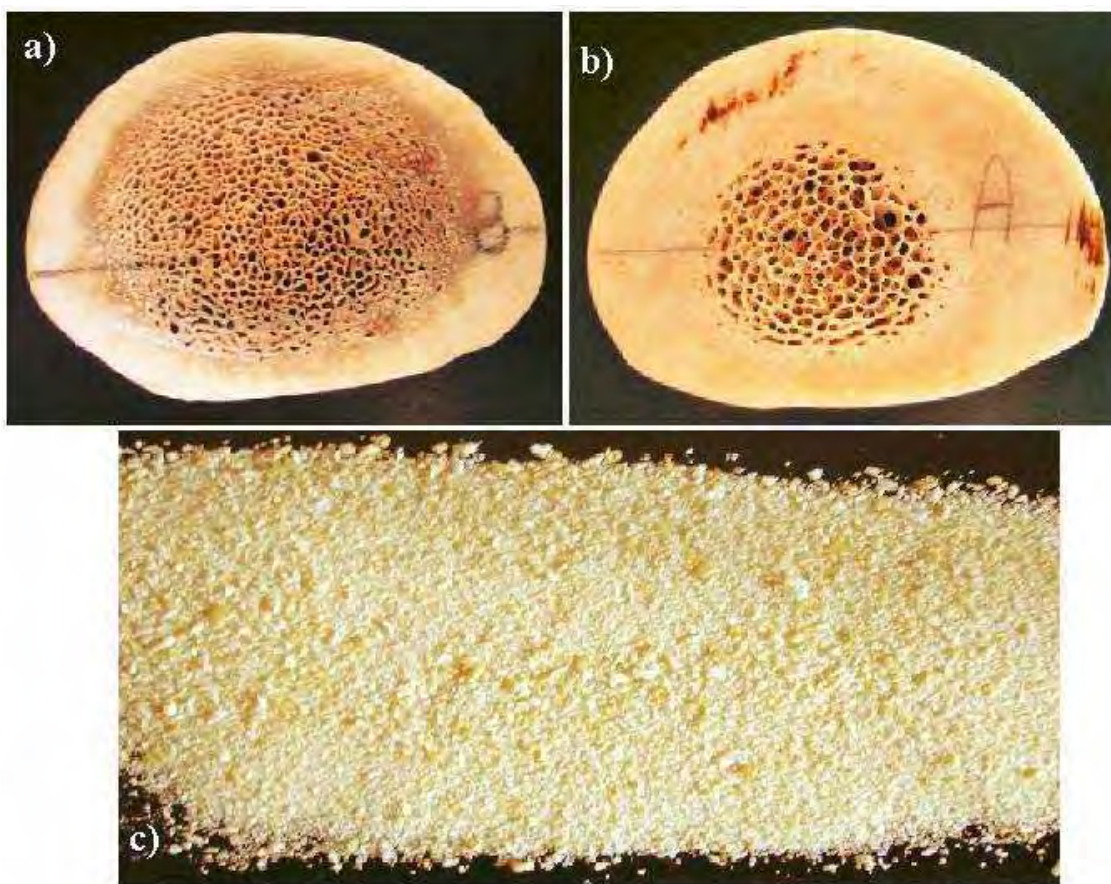


Figura 3. Fotos mostrando em a) e b) amostras de epífise de metacarpo equino com tecido ósseo compacto e trabecular para estudo da variação da porosidade nos dois tecidos e em c) amostra particulada de metacarpo de equino após processo de trituração.

Após uso das amostras na obtenção dos dados de intensidade de feixe transmitido como será mostrado posteriormente, as amostras foram recolhidas para o processo de trituração com a finalidade de obter apenas a amostra particulada destas. Para isso foi necessário o uso de uma trituração com as amostras congeladas em nitrogênio líquido no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista no campus de Botucatu – SP. Após trituração a amostra em pó foi cuidadosamente filtrada em peneira GRANUTEST – USBS 120 com abertura de 0,125 mm, como mostra o exemplo da Figura 3.

5.2. Conjunto experimental de atenuação da radiação gama

5.2.1. Caracterização geral

Os componentes do equipamento que utiliza a atenuação da radiação gama no ensaio não foram adquiridos comercialmente, sendo desenvolvido e confeccionado no

laboratório de física aplicada. Este sistema possui basicamente os seguintes componentes:

- Uma fonte de radiação gama selada e blindada com radioisótopo Amerício – 241 (^{241}Am) com meia vida de 474 anos, atividade de 200 mCi e fotopico de 59,6 keV com intensidade de emissão de 35,9 % (Rezende et al., 1999 apud Costa, 2006);
- Um sistema de detecção por cintilação sólida com cristal de iodeto de sódio com traços de tálio NaI(Tl) inserido em uma válvula fotomultiplicadora acoplada a uma fonte de alta tensão da marca GDM e ligada a um amplificador de sinal da marca GDM;
- Uma placa de conversão de sinal A/D (Analógico/Digital), instalada em um microcomputador para o fornecimento dos valores de I e I_0 por meio de um programa específico do sistema de detecção da marca GDM, que funciona na plataforma Windows.
- Um aparato eletromecânico para a movimentação automática da amostra.
- Suporte para acomodação adequada dos componentes.

No equipamento a fonte é fixada de forma que o feixe seja emitido horizontalmente e aproximadamente 30,0 cm de altura da plataforma da mesa onde foi montado, o sistema de detecção foi fixado frontalmente ao feixe a 10,0 cm da saída da fonte e o aparato eletromecânico está montado entre a fonte e o sistema de detecção.

O aparato eletromecânico funciona de forma que a amostra, fixada em uma base horizontal, possa transladar horizontalmente e perpendicularmente ao feixe de radiação, movimentando-se sobre um parafuso com rosca sem fim que gira por meio de uma transmissão de polia-correia ligada a um motor elétrico de potência variável, permitindo o deslocamento da base com a amostra, através do feixe de radiação, em várias velocidades. A Figura 4 apresenta um esquema do equipamento destacando seus principais componentes, mostrados também na Figura 5.

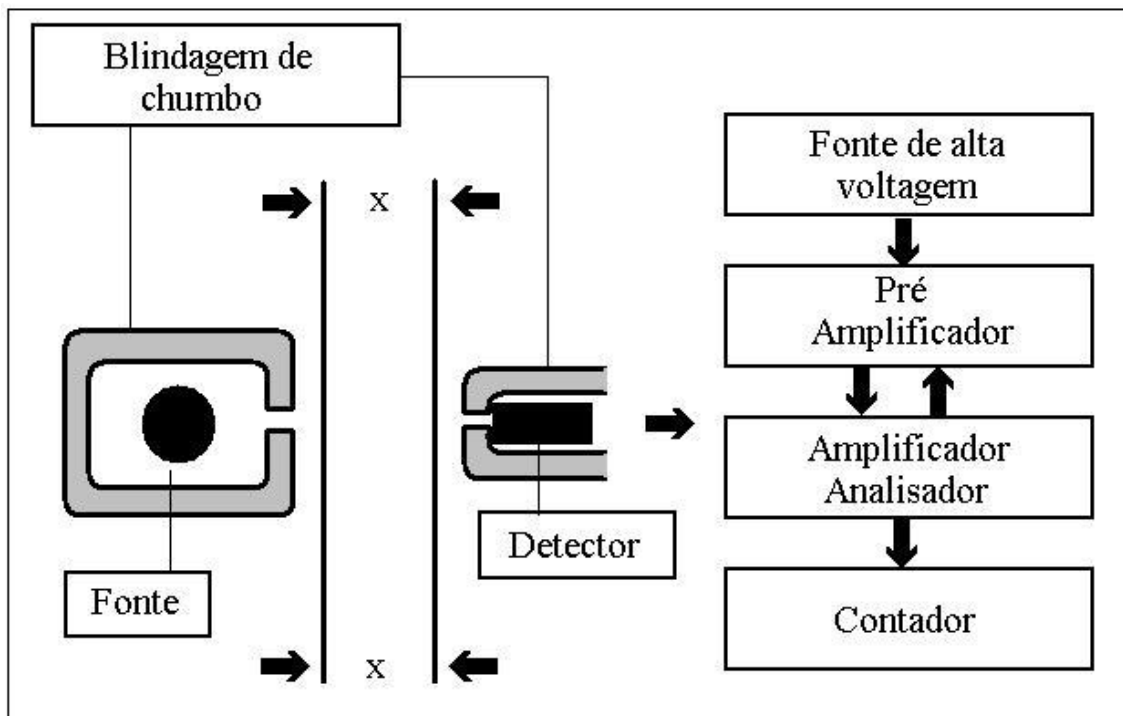


Figura 4. Esquema representativo dos principais constituintes do equipamento de atenuação da radiação gama de ^{241}Am utilizado no trabalho.

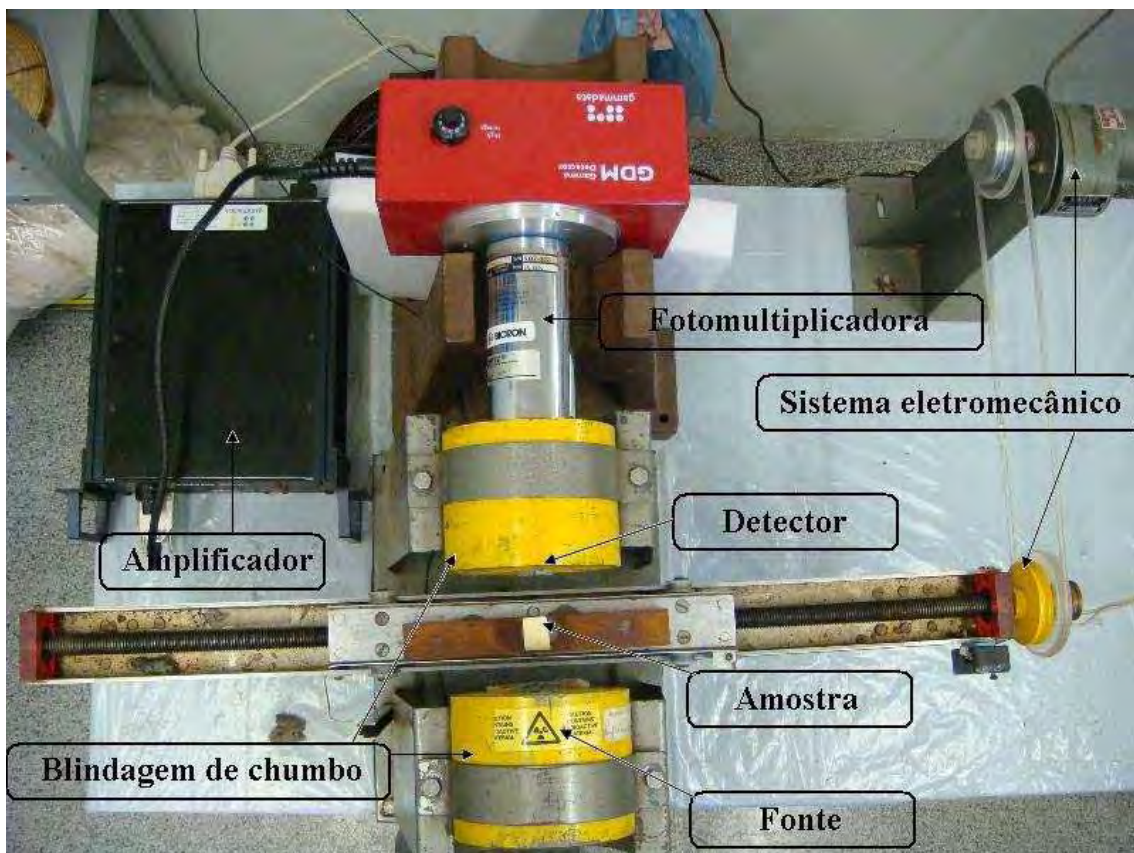


Figura 5. Fotografia do equipamento montado do Método de atenuação da radiação gama de ^{241}Am , destacando seus principais componentes.

A colimação do feixe de radiação emitida pela fonte é feita por uma fenda de 0,5 mm de largura por 6,0 mm de altura em um anteparo de chumbo fixado na saída da fonte. Após atravessar a amostra o feixe colimado e contínuo é novamente colimado na entrada do detector que possui um anteparo de chumbo com uma fenda nas mesmas dimensões.

5.2.2. Sistema de detecção

A detecção por cintilação sólida acontece dentro de uma válvula fotomultiplicadora. Quando a radiação gama atinge o cristal de NaI(Tl) ele absorve a radiação e emite luz. A luz é direcionada opticamente para um fotocátodo localizado após o cristal, que absorve a luz e emite elétrons. Os elétrons são acelerados para um dinodo, de forma côncava, e localizado após o fotocátodo, que possui um potencial elétrico positivo e mais baixo que o fotocátodo.

Quando os elétrons acelerados, pela diferença de potencial elétrico, atingem o dinodo eles arrancam elétrons da superfície do dinodo e são refletidos e novamente acelerados por diferença de potencial elétrico para outro dinodo, depois para outro dinodo e assim por diante até passar por todos os dinodos e chegar ao anodo. A fonte de alta tensão, na ordem de 900 V, alimenta o fotocátodo e os dinodos subsequentes.

A colisão dos elétrons com a superfície dos dinodos produzem uma multiplicação dos elétrons conduzidos do fotocátodo até o dinodo (receptor de elétrons), aumentando assim a intensidade do pulso de corrente elétrica gerado pela radiação gama incidente no cristal de NaI(Tl). O pulso gerado na válvula fotomultiplicadora é amplificado, medido e depois convertido em digital no microcomputador. A Figura 6 ilustra o funcionamento no interior da fotomultiplicadora.

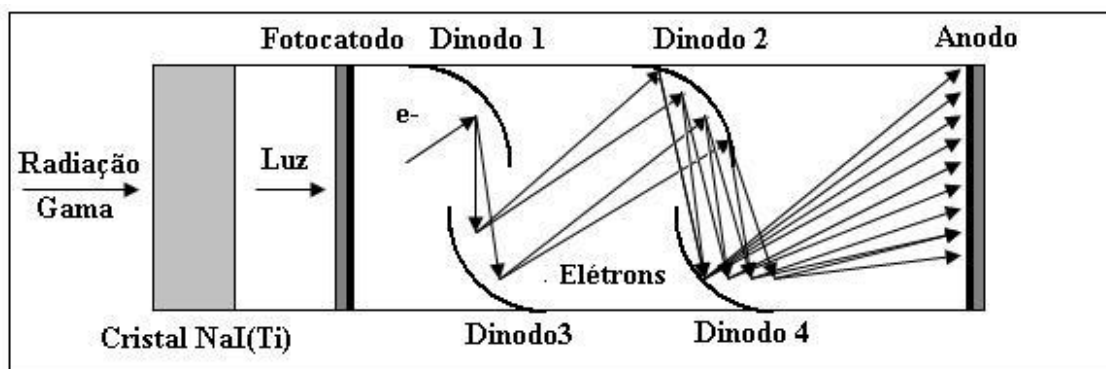


Figura 6. Esquema representativo de detecção da radiação gama por cintilação sólida com NaI(Ti) e válvula fotomultiplicadora com 4 dinodos.

5.2.3. Calibração

O equipamento de detecção fornece um espectro da contagem de radiação versus os canais. Cada um dos 1024 canais do espectro detecta pulsos em diferentes intervalos de intensidades subsequentes, a largura dos canais é igual à janela do discriminador que detecta apenas os pulsos neste intervalo (Montanheiro et al., 1977).

Com o equipamento em funcionamento foi obtido um espectro de energia da fonte. Diminuindo a tensão na válvula fotomultiplicadora deslocamos o fotopico característico do Amerício – 241 (^{241}Am) para os canais mais baixos do espectro, livres de interferências detectadas com a tensão mais alta. No amplificador foram cortados os ruídos de baixa intensidade, limitando a amplificação para canais mais altos que os ruídos e mais baixos que o fotopico, ficando nítido apenas o fotopico de 59,6 keV do ^{241}Am .

A partir do espectro foi definida uma janela de aproximadamente 10 canais que compreendia apenas o fotopico principal. Neste radioisótopo existem outros dois fotopicos de menor energia que podiam ser visualizados no espectro, mas não foram considerados na largura da janela. Depois de delimitada as janelas foram obtidas as Ios praticamente estáveis dentro do intervalo de 40000 à 50000 com, então o sistema foi programado para realizar medidas com duração de sete segundos e utilizando média de 3 contagens para marcação.

5.3. Método de imersão, retratibilidade, umidade e porosidade

5.3.1. Caracterização geral

A determinação destas propriedades físicas do tecido ósseo compacto foi feita com a utilização de medidas diretas e através do método de Arquimedes, também chamado de método de imersão. Para as medidas diretas de massa das amostras foi utilizado balança de precisão TECNAL – BG400 com erro de 0,1 g e desvio de 0,01 g.

Para determinação dos volumes das amostras o método de Arquimedes foi utilizado, sendo formado basicamente por uma balança e um béquer com água deionizada, como mostra a Figura 7.

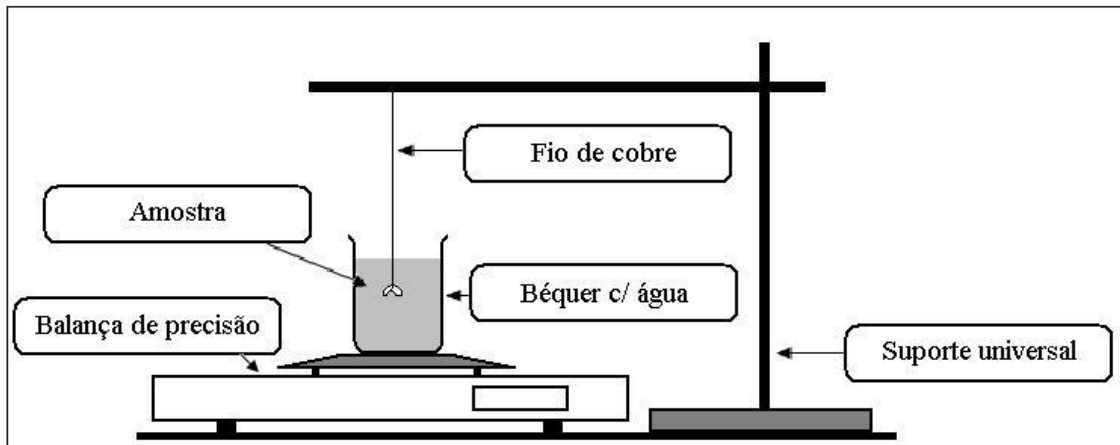


Figura 7. Esquema do arranjo experimental utilizado no método de Arquimedes.

O aparato de medida consiste basicamente de:

- Balança de precisão TECNAL – BG400 com erro de 0,1 g e desvio de 0,01 g;
- Béquer (600 mL) preenchido com 400 mL de água deionizada;
- Fio de cobre.
- Suporte Universal

A balança foi posicionada sobre bancada de forma a ficar nivelada, sendo o béquer preenchido com água posicionado sobre e esta tarada para fornecer os valores dos volumes das amostras.

Os valores de espessura de cada linha em cada amostra foram medidos com paquímetro digital MITUTOYO Ltda. número 500 – 144B, Classe IV.

5.4. Metodologia experimental

A cronologia dos experimentos foi montada de acordo com o material amostrado, já que todos os dados foram obtidos em três condições de umidade. (Matthew, J. et al., 2007) mostraram que a estrutura de microporos presente no tecido ósseo compacto se mantém devido a forças de tensão exercidas por moléculas de água presentes, fazendo com que nossos experimentos seguissem sempre em ordem decrescente de umidade.

Quanto à ordem dos métodos a ser empregado, foi determinado que as amostras primeiramente passassem pelo método de atenuação da radiação gama do Amerício – 241, depois pela pesagem de massa e determinação da espessura e por fim pelo método de Arquimedes. Com a posterior trituração e peneiragem destas, foi utilizado o método do picnômetro para determinação da densidade das partículas ósseas.

5.4.1. Medidas utilizando o método de atenuação da radiação gama

Para realizarmos as medidas de atenuação da radiação gama do ^{241}Am foi escolhido aleatoriamente quatro amostras das dez presentes e em cada uma, traçado quatro linhas. Após este procedimento, ao longo de cada linha a espessura da amostra foi medida seis vezes para utilização da média das espessuras encontradas.

As amostras foram posicionadas sobre um suporte de madeira acoplado ao carrinho do sistema eletromecânico de forma que a linha traçada na amostra estivesse alinhada paralelamente a base do equipamento e na altura do centro do feixe. Assim o carrinho foi posicionado sobre o sistema em movimento e os dados de intensidade de feixe incidente e intensidade de feixe transmitido determinados.

O sistema eletromecânico foi regulado para movimentar cerca de dois milímetros por minutos de forma constante resultando na aquisição de um número maior de valores de feixe incidente e transmitido ao longo de cada linha de cada amostra. Após a passagem de todas as linhas, os dados foram salvos em tabelas separadas para a utilização na determinação dos coeficientes de atenuação.

A partir dos dados da radiação gama de cada amostra foi separado os valores de I_0 e I para cada amostra. A variação acentuada das contagens devido à presença de amostra proporcionava fácil e imprescindível separação de I .

Costa, V., (2006), mostrou que as contagens de I_0 e I não necessitam de correções devido ao tempo morto do sistema de contagem eletrônico (τ), ou seja, tempo mínimo que pode separar dois consecutivos registros de fótons. Este fator, proposto por (Stroosnijder et al., 1974) e destacado como um dos responsáveis pelo número de contagens registradas ser menor que a quantia de eventos que alcançam o detector, não será muito relevante devido ao fato do número de contagens por minuto ser menor que o máximo tolerável pelo equipamento.

O coeficiente de atenuação de massa definido anteriormente, foi obtido a partir da equação (4), descrita na equação (5):

$$\mu_m = \frac{\ln\left(\frac{I}{I_0}\right)}{\rho x} \quad (5)$$

onde I_0 representa o valor de contagens por minuto (cpm) da radiação sem a amostra; I o valor de contagens por minuto (cpm) da radiação com a amostra; μ_m o coeficiente de massa de atenuação da radiação gama (cm^2/g); ρ a densidade aparente (g/cm^3) e x a espessura da amostra.

Para obtermos o coeficiente de atenuação linear da amostra, definido aqui por (μ) e de dimensão cm^{-1} , multiplicamos o coeficiente de atenuação de massa pela densidade aparente (ρ) obtendo (6):

$$\mu = \mu_m \rho \quad (6)$$

ou (7),

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{I}{I_0}\right)}{x} \quad (7)$$

onde μ é o coeficiente linear de atenuação da radiação gama.

5.4.2. Medidas de massa, volume e reprodutibilidade.

Nestas medidas foram utilizadas todas as dez amostras retiradas de cada osso rádio. Após a passagem das amostras pela atenuação de radiação, estas tiveram suas massas medidas em gramas por balança de precisão e com o arranjo experimental do método de Arquimedes montado, foi medido o volume das amostras.

Para a obtenção do volume, as amostras foram fixadas em fio de cobre de 0,05 mm^2 de área estando presas assim ao suporte universal. Com o deslocamento para baixo do suporte, as amostras foram uma a uma imergidas em béquer com água e os valores de massa de água deslocada ou volume das amostras, anotados.

Este método utiliza a força de empuxo como princípio, onde a presença de um dado volume de matéria em um recipiente com água determina uma força contrária à força peso descrito por (8):

$$E = F = ma \quad (8)$$

onde \mathbf{E} , \mathbf{F} é a Força Empuxo (N); \mathbf{m} a massa (g) e \mathbf{a} a aceleração da gravidade (cm/s^2).

Utilizando as unidades de medida no sistema de unidades cgs*, onde as unidades fundamentais são centímetro, grama e segundo, e a força é uma unidade derivada como: 1 unidade de força no sistema inercial cgs* = 1 g x 1 cm/s^2 .

Partindo do princípio que o sistema esta em equilíbrio, no momento em que a balança é tarada e a amostra se encontra submersa na água contida no béquer, as forças que estarão agindo na amostra serão: peso da amostra (P) e empuxo (E) (9).

$$E = \rho g V \quad (9)$$

onde \mathbf{E} é a Força Empuxo (N); ρ a densidade da água (g/cm^3) e \mathbf{V} o volume da amostra (cm^3).

Sendo a força empuxo (E) dada pela equação (9), considerando a aceleração da gravidade $g = 1 \text{ cm/s}^2$ e a densidade da água $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$, temos que o empuxo é numericamente igual ao volume da amostra óssea dado diretamente no display da balança em cm^3 .

Também foi determinada para cada amostra a densidade aparente ($\rho_{\%}$) em (g/cm^3) nos diferentes umidades do osso pela equação (10).

$$\rho_{\%} = \left(\frac{m_{\%}}{V_{\%}} \right) \quad (10)$$

onde $m_{\%}$ é a massa da amostra a % umidade (g) e $V_{\%}$ o volume da amostra a % umidade (cm^3).

A partir dos dados obtidos das amostras foi calculada, para cada medição, as reprodutibilidades volumétrica (R_v) percentual por meio da equação (11), estabelecidas pelas normas da NBR 7190/97 (ABNT, 1997) e a reprodutibilidade volumétrica máxima ($R_{vm\acute{a}x}$) percentual das amostras, determinada pela equação (12).

$$R_v = \left(\frac{V_v - V_u}{V_v} \right) 100 \quad (11)$$

$$R_{vm\acute{a}x} = \left(\frac{V_v - V_0}{V_v} \right) 100 \quad (12)$$

onde V_v é o Volume de Saturação (cm^3); V_u o volume a dada umidade (cm^3) e V_0 o volume da amostra seca ou a 0% umidade (cm^3).

5.4.3. Medidas de Porosidade

Para determinação da porosidade das amostras, foi necessária a obtenção da densidade das partículas através do método do picnômetro. Para isto as amostras foram moídas através do processo de trituração citado anteriormente e pesado suas massas.

Um balão volumétrico de 500 mL foi preenchido com água até a marcação através do menisco e então a água colocada em béquer limpo, seco e de massa conhecida. Após este procedimento, a amostra em pó foi colocada dentro do balão com utilização de funil e o restante do volume preenchido com a água contida no béquer. Durante o preenchimento do restante do béquer com água foi necessário o processo de agitação manual para a homogeneização do material dentro do balão de forma que não permanecesse nenhuma bolha de ar. Com o balão preenchido de água até a marcação foi pesado o béquer com a água restante e o valor da massa anotado.

Estes procedimentos determinaram à obtenção de dados de massa e volume das partículas ósseas sendo possível a determinação da densidade das partículas, definido pela equação (13):

$$\rho_0 = \left(\frac{m_p}{V_p}\right) \quad (13)$$

Onde ρ_0 é a densidade da substância osso (g/cm^3); m_p a massa das partículas ósseas (g) e V_p o volume das partículas ósseas (cm^3).

E a porosidade, definido como porosidade percentual (δ), do osso seco calculado a partir da densidade a 0% de umidade ($\rho_{0\%}$) e a densidade da substância osso (ρ_0), utilizando a equação (14).

$$\delta = \left(1 - \left(\frac{\rho_{0\%}}{\rho_0}\right)\right)100 \quad (14)$$

Onde δ é a porosidade percentual (%); $\rho_{0\%}$ a densidade a 0% umidade (g/cm^3) e ρ_0 a densidade da substância osso (g/cm^3).

5.5. Condições de Umidade Estudadas

Todos os procedimentos descritos foram feitos em três diferentes condições de umidade. Primeiramente as amostras foram trabalhadas à umidade descrita por umidade de saturação, depois passaram por medidas na condição de umidade de equilíbrio ou umidade ambiental e por ultimo medidas em condições secas.

Para obtenção das amostras no estado de umidade de saturação foi necessária a permanência destas em água por no mínimo 12 dias até que suas massas medidas em balança estivessem constantes.

Com as medidas nestas condições obtidas, as amostras foram colocadas em ambiente para determinação das medidas na condição de umidade de equilíbrio ou ambiental, sendo necessários mínimos 4 dias para obter massa nestas condições constante.

A terceira e ultima condição de umidade foi obtida através do uso de estufa. Para isto as amostras foram colocadas em placas de vidro e submetidas à estufa com temperatura de 80 °C durante as primeiras três horas, sendo elevada à temperatura para 100 °C e medidas suas massas até adquiri-las constante, sendo necessário até cinco dias nestas condições.

A umidade, determinada através das massas do osso úmido e seco, pode ser adquirida em duas bases, denominadas base seca (U_{bs}) e base úmida (U_{bm}). A umidade base seca percentual do osso foi determinado pela equação (15);

$$U_{bs} = \left(\frac{m_u - m_0}{m_0} \right) 100 \quad (15)$$

Onde U_{bs} é o valor de umidade base seca (%); m_u a massa do osso úmido (g) e m_0 a massa do osso seco (g).

E a umidade base úmida (U_{bm}), descrita pela equação (16):

$$U_{bm} = \left(\frac{m_u - m_0}{m_u} \right) 100 \quad (16)$$

6. Resultados

6.1. Estudo preliminar

Como descrito anteriormente, o estudo preliminar utilizou como amostras: RII, RIM, RIS e MI sendo todos os dados coletados em umidade ambiente.

Inicialmente foram obtidos por medida direta os valores médios e seus respectivos desvios padrões de massa, comprimento e espessura das amostras, vistos na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados de medidas experimentais diretas de massa, comprimento e espessura; valores médios com respectivos desvios padrões das contagens de I_0 e I pelo método de atenuação da radiação gama ^{241}Am e valores médios com respectivos desvios padrões dos volumes obtidos através do método de imersão das amostras MI, RII, RIM e RIS.

	RIS	RIM	RII	MI
Massa (g)	8,21 ± 0,1	14,42 ± 0,1	6,4 ± 0,1	24,38 ± 0,1
Comp. (mm)	65,43 ± 0,23	68,13 ± 0,37	66,56 ± 0,29	146,86 ± 0,52
Espess. (mm)	10,56 ± 0,70	9,685 ± 0,47	9,655 ± 0,28	10,46 ± 0,36
I_0 (cpm)	4921 ± 68	4913 ± 68	4917 ± 66	4925 ± 86
I (cpm)	2600 ± 68	2706 ± 77	2766 ± 81	2648 ± 64
Volume (cm ³)	4,08 ± 0,15	7,16 ± 0,28	3,17 ± 0,12	12,10 ± 0,49

Posteriormente posicionadas sobre o aparato eletromecânico do equipamento de atenuação da radiação gama de Amerício (^{241}Am), foram obtidos os valores das contagens dos feixes sem e com a presença das amostras durante toda sua extensão, como mostra o conjunto de gráficos (Figura 8) e Tabela 2 representando os valores ponto a ponto e os valores médios com desvio padrão respectivamente.

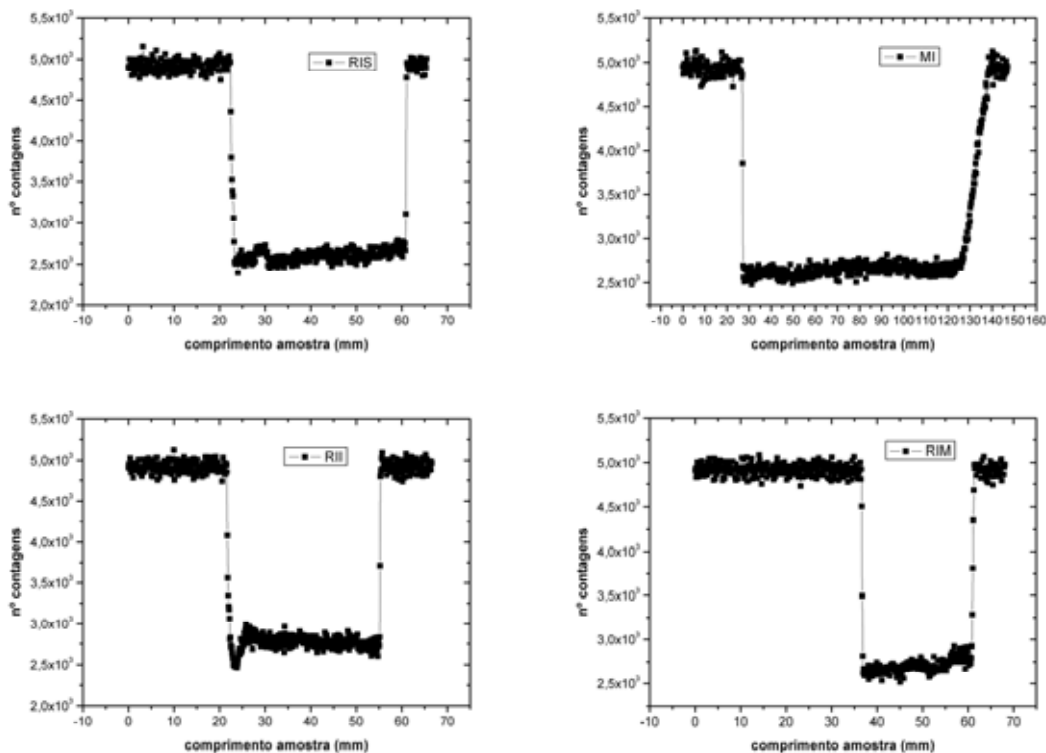


Figura 8. Gráfico dos valores de contagens de tempo fixo de fótons obtidos experimentalmente ponto a ponto ao longo das amostras MI, RII, RIM e RIS pelo método de atenuação da radiação gama ^{241}Am .

Na seqüência experimental foram obtidos os volumes das amostras pelo método de imersão, tendo como resultado os valores também na Tabela 2.

Estes dados possibilitaram o cálculo da densidade das amostras na condição de umidade ambiental através da equação (10) e o cálculo do coeficiente de atenuação de massa através da equação (5), obtendo como resultados os valores da Tabela 3.

Tabela 3. Valores calculados da densidade através da equação (10) e do coeficiente mássico de atenuação da radiação gama do ^{241}Am através da equação (5) para as amostras MI, RII, RIM e RIS

	RIS	RIM	RII	MI
Dens. (g/cm ³)	1,960 ± 0,002	1,964 ± 0,003	1,967 ± 0,003	1,959 ± 0,010
Coef. Aten.	0,301 ± 0,002	0,302 ± 0,001	0,311 ± 0,003	0,289 ± 0,022
Mas. (cm ² /g)				

6.2. Estudo das epífises

Os estudos envolvendo as amostras epifisárias (figura 3 a e b) foram feitos para determinação das variações do coeficiente de atenuação de massa e porosidade dentro das amostras. Isto se deve ao fato destas apresentarem tanto o tecido ósseo compacto quanto o tecido ósseo trabecular (matriz mineralizada).

As duas amostras, designadas no presente trabalho por $A_{\text{sec.total}}$ e $B_{\text{sec.total}}$, passaram pelo método de atenuação da radiação gama de ^{241}Am , pelo método de imersão e finalmente pelo método do picnômetro, fornecendo os resultados para cálculo do coeficiente de atenuação de massa para ^{241}Am , densidade e porosidade, todos na condição de umidade ambiente

Para a amostra $A_{\text{sec.total}}$, foram obtidos dados por medidas diretas de espessura média \pm desvio padrão (mm) igual à $1,105 \pm 0,054$; massa (g) igual à $16,60 \pm 0,33$ e volume (cm^3) $8,46 \pm 0,50$. Ainda, foram obtidas contagens de I_0 e I ao longo de toda a amostra ponto a ponto e valor médio total \pm desvio padrão igual a 4255 ± 1080 .

Para a amostra $B_{\text{sec.total}}$, foram obtidos dados por medidas diretas de espessura média \pm desvio padrão (mm) igual à $1,126 \pm 0,082$, massa (g) igual à $10,82 \pm 0,51$ e volume (cm^3) $5,50 \pm 0,63$. Ainda, foram obtidas contagens de I_0 e I ao longo de toda a amostra ponto a ponto e valor médio total \pm desvio padrão igual a 4247 ± 783 .

Tanto para $A_{\text{sec.total}}$ quanto para $B_{\text{sec.total}}$ os valores de densidade das partículas obtido foi de $2,25 \pm 0,20$.

A obtenção destes dados possibilitou o cálculo da densidade das amostras através da equação (5), utilizando o valor médio das contagens de intensidade I_0 de cada amostra e os coeficientes de atenuação de massa obtidos através da utilização das contagens de I da região compacta das amostras, de valores respectivamente iguais a 2510 ± 81 e $0,33 \pm 0,05$ para $A_{\text{sec.total}}$; 2753 ± 69 e $0,33 \pm 0,07$ para $B_{\text{sec.total}}$, como mostra a figura 9.

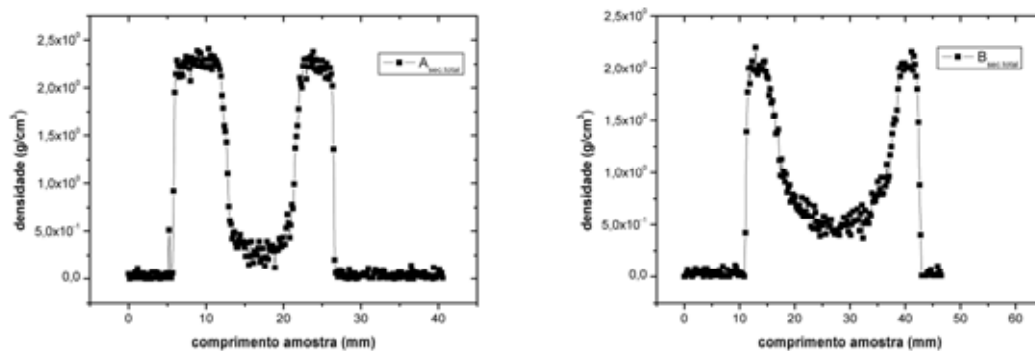


Figura 9. Valores de densidade calculados para as amostras $A_{\text{sec.total}}$ e $B_{\text{sec.total}}$ ponto a ponto utilizando os valores médios encontrados de feixe incidente (I_0) e coeficiente mássico de atenuação da radiação gama do ^{241}Am (μ_{mas}).

Ainda, foram feitos cálculos para a porosidade nestas amostras de acordo com a equação (14) ponto a ponto destacados na figura 10, obtendo como resultados de porosidade média (%) em $A_{\text{sec.total}}$ $67,81 \pm 41,96$ % e em $B_{\text{sec.total}}$ $67,76 \pm 31,30$ %.

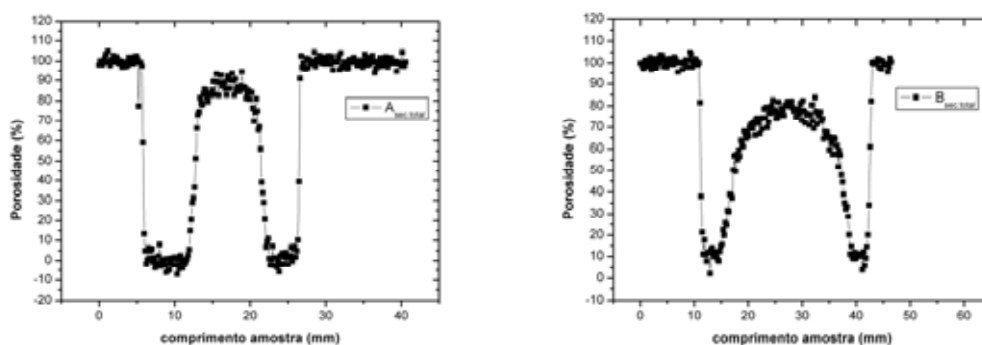


Figura 10. Valores calculados de porosidade (%) para as amostras $A_{\text{sec.total}}$ e $B_{\text{sec.total}}$ ponto a ponto utilizando equação (14) e valores experimentais obtidos de densidade aparente ponto a ponto mostrados na figura 11 e densidade das partículas.

6.3. Amostras

As amostras utilizadas do animal 1 e 2, designadas neste trabalho pelo conjunto de amostras A1 à A10 e B1 à B10 respectivamente, passaram por todo processo metodológico já apresentado resultando no conjunto de dados mostrados a seguir através de tabelas e gráficos que serão posteriormente discutidos.

As medidas diretas feitas através da utilização de balança e paquímetro forneceram valores médios de massa e espessura das amostras, destacados no apêndice A.

Com a utilização do método de atenuação da radiação gama do ^{241}Am , as amostras selecionadas (A1, A4, A7, A10, B1, B4, B7 e B10) forneceram um conjunto gigantesco de dados sobre intensidade do feixe sem a presença de amostra e através da transmissão das linhas nas amostras. O apêndice B apresenta um banco de dados com valores médios e desvio padrão dos feixes incidente (I_0) e transmitido (I) para as diferentes linhas de cada amostra utilizada em contagens por minuto (cpm) para as três condições de umidade empregadas no trabalho.

Este conjunto de dados foi trabalhado juntamente com os valores de espessura determinados para cada linha, presente no apêndice A e ainda com os valores de densidade aparente (ρ) obtidos para cálculo dos coeficientes de atenuação de massa da radiação gama do ^{241}Am , fornecendo os valores da tabela 4.

Tabela 4. Valores do coeficiente de atenuação de massa da radiação gama do ^{241}Am (μ_m) (cm^2/g) nas três condições de umidade utilizadas no trabalho (saturado, ambiental e seco).

Amostra	Linha	Sat.	Amb.	Seco	Amostra	Linha	Sat.	Amb.	Seco
A1	L1	0,33	0,28	0,29	B1	L1	0,29	0,31	0,30
	L2	0,31	0,34	0,34		L2	0,31	0,30	0,32
	L3	0,29	0,28	0,28		L3	0,33	0,32	0,31
	L4	0,27	0,27	0,30		L4	0,31	0,32	0,27
A4	L1	0,24	0,32	0,32	B4	L1	0,33	0,31	0,34
	L2	0,29	0,31	0,31		L2	0,29	0,28	0,28
	L3	0,35	0,32	0,31		L3	0,29	0,29	0,31
	L4	0,31	0,30	0,34		L4	0,30	0,29	0,32
A7	L1	0,32	0,32	0,33	B7	L1	0,26	0,30	0,30
	L2	0,32	0,32	0,29		L2	0,31	0,30	0,29
	L3	0,30	0,27	0,29		L3	0,30	0,31	0,32
	L4	0,31	0,29	0,29		L4	0,29	0,34	0,31
A10	L1	0,29	0,32	0,28	B10	L1	0,25	0,35	0,28
	L2	0,31	0,32	0,31		L2	0,29	0,28	0,28
	L3	0,31	0,32	0,29		L3	0,30	0,28	0,27
	L4	0,32	0,32	0,31		L4	0,30	0,31	0,30

Os dados dos volumes (V) das amostras foram obtidos através da aplicação do método de Archimedes, sendo representados também no apêndice A e medido para o

conjunto de amostras do animal 1 e 2 nas três condições de umidade presente no trabalho respectivamente.

Além dos volumes aparente obtidos através do método de imersão, as medidas do volume das partículas (V_{part}) foi determinado para o conjunto de amostras do animal 1 e 2 através do método do picnômetro. Devido a massa das amostras serem baixas ($\pm 2,5$ g) e a necessidade de utilização de uma quantidade maior de massa para realização do método a fim de otimizar o resultado obtido (> 20 g), as amostras do animal 1 foram trituradas juntas e realizado então apenas uma série de medidas. Da mesma forma foram tratadas as amostras do animal 2, obtendo resultados da densidade pela equação(13) e sendo representadas na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de massa das partículas (m_p) (g), volume das partículas (V_p) (cm^3) e densidade das partículas (ρ_p) (g/cm^3) das amostras do animal 1 e 2 pelo método do picnômetro.

	Massa (m_p)(g)	Volume (V_p) (cm^3)	Dens. (ρ_p) (g/cm^3)
Animal 1	$20,3 \pm 0,05$	$9,00 \pm 0,50$	$2,25 \pm 0,50$
Animal 2	$23,2 \pm 0,10$	$10,93 \pm 0,50$	$2,12 \pm 0,50$

A partir dos dados obtidos pelo emprego dos diferentes métodos utilizados no trabalho foi possível o calculo das propriedades físicas densidade aparente, porosidade, reatibilidade volumétrica e umidade base úmida das amostras, apresentadas no conjunto de tabelas e gráficos a seguir.

Utilizando os dados de massa e volume das tabelas presente no apêndice A e a equação (10) determinamos a densidade das amostras nas três condições de umidade, representados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Valores da densidade (g/cm^3) calculado nas amostras do animal 1 nas três condições de umidade estudadas no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
A1	$1,95 \pm 0,15$	$2,13 \pm 0,21$	$1,89 \pm 0,30$
A2	$1,96 \pm 0,18$	$1,94 \pm 0,07$	$1,90 \pm 0,08$
A3	$1,95 \pm 0,11$	$1,96 \pm 0,17$	$1,95 \pm 0,20$
A4	$1,63 \pm 0,23$	$1,53 \pm 0,18$	$1,59 \pm 0,13$
A5	$1,97 \pm 0,14$	$2,14 \pm 0,11$	$1,91 \pm 0,07$
A6	$1,99 \pm 0,07$	$1,96 \pm 0,05$	$1,94 \pm 0,09$
A7	$1,99 \pm 0,12$	$2,07 \pm 0,14$	$1,97 \pm 0,15$
A8	$1,96 \pm 0,20$	$1,92 \pm 0,12$	$1,88 \pm 0,18$
A9	$1,93 \pm 0,10$	$1,87 \pm 0,36$	$1,84 \pm 0,12$
A10	$1,99 \pm 0,16$	$1,97 \pm 0,28$	$1,95 \pm 0,21$

Tabela 7. Valores da densidade (g/cm^3) calculado nas amostras do animal 2 nas três condições de umidade estudadas no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
B1	$1,85 \pm 0,03$	$1,75 \pm 0,09$	$1,72 \pm 0,04$
B2	$1,91 \pm 0,09$	$1,87 \pm 0,04$	$1,83 \pm 0,16$
B3	$1,93 \pm 0,02$	$1,89 \pm 0,06$	$1,85 \pm 0,05$
B4	$1,97 \pm 0,12$	$2,09 \pm 0,15$	$1,92 \pm 0,13$
B5	$1,97 \pm 0,08$	$1,91 \pm 0,10$	$1,91 \pm 0,04$
B6	$1,96 \pm 0,05$	$1,92 \pm 0,03$	$1,89 \pm 0,07$
B7	$1,98 \pm 0,02$	$1,94 \pm 0,02$	$1,92 \pm 0,02$
B8	$1,96 \pm 0,04$	$1,93 \pm 0,03$	$1,89 \pm 0,01$
B9	$2,21 \pm 0,09$	$1,92 \pm 0,07$	$1,87 \pm 0,06$
B10	$1,84 \pm 0,03$	$1,78 \pm 0,07$	$1,78 \pm 0,05$

A porosidade das amostras foi feita através da utilização da equação (14) e dos dados presente nas tabelas 5, 6 e 7, determinando os resultados da tabela 8.

Tabela 8. Valores da porosidade calculada para as amostras dos animais 1 e 2 utilizando equação (14) e valores de densidade aparente saturado presente nas tabelas 5, 6 e 7.

		Porosidade (%)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	média
Animal	1	13,1	12,8	13,4	27,6	12,5	11,5	11,3	13,0	14,4	11,5	14,1 ± 4,81
Animal	2	12,8	10,0	8,9	6,9	7,0	7,4	6,5	7,3	0,0	13,3	7,63 ± 4,82

A retratibilidade volumétrica (R_v) com umidade ambiente e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{vmáx}$), definidas pelas equações (11) e (12) respectivamente, foram calculadas sendo apresentadas na tabela 9.

Tabela 9. Valores da retratibilidade volumétrica (R_v) e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{vmáx}$) calculados pelas equações (11) e (12) nos conjuntos de amostras dos animais 1 e 2.

Amostra	R_v (%)	$R_{vmáx}$ (%)	Amostra	R_v (%)	$R_{vmáx}$ (%)
A1	11,40 ± 0,90	11,73 ± 0,90	B1	1,91 ± 0,20	12,10 ± 0,20
A2	2,51 ± 1,00	11,64 ± 1,00	B2	4,02 ± 0,30	12,64 ± 0,30
A3	4,01 ± 1,30	14,03 ± 1,30	B3	2,94 ± 0,20	12,35 ± 0,20
A4	2,45 ± 1,20	19,73 ± 1,20	B4	10,60 ± 0,30	13,25 ± 0,30
A5	10,88 ± 0,50	11,18 ± 0,50	B5	2,26 ± 0,10	12,78 ± 0,10
A6	1,63 ± 0,40	11,13 ± 0,40	B6	2,78 ± 0,00	12,96 ± 0,00
A7	6,93 ± 0,40	11,05 ± 0,30	B7	2,80 ± 0,10	13,08 ± 0,10
A8	2,13 ± 0,80	10,93 ± 0,80	B8	2,63 ± 0,10	12,28 ± 0,10
A9	1,93 ± 0,40	10,95 ± 0,60	B9	-9,17 ± 0,20	1,67 ± 0,20
A10	2,43 ± 0,20	10,24 ± 0,20	B10	5,67 ± 0,20	16,31 ± 0,20

A obtenção das massas das amostras nas três condições de umidade (saturado, ambiente e seco) forneceu suporte para cálculo da umidade das amostras nestas condições. De acordo com a equação (15) são apresentados na tabela 10 os valores de Umidade base seca (U_{bs}) de saturação e ambiental das amostras.

Tabela 18. Valores de U_{bs} de saturação (Sat.) e ambiental (Amb.) determinados pela equação (15) para o conjunto de amostras dos animais 1 e 2 no estado de saturação e respectivos valores médios.

Amostras	U_{bs} Sat. (%)	U_{bs} Amb. (%)	Amostras	U_{bs} Sat. (%)	U_{bs} Amb. (%)
A1	16,96	12,87	B1	21,85	13,45
A2	16,87	12,79	B2	19,42	12,59
A3	15,99	12,17	B3	18,84	13,04
A4	27,38	16,91	B4	18,73	12,35
A5	15,63	12,26	B5	18,55	12,22
A6	15,62	11,91	B6	19,10	13,48
A7	13,78	10,15	B7	18,44	12,85
A8	16,79	12,17	B8	18,52	13,23
A9	17,82	12,52	B9	19,91	14,03
A10	13,89	10,19	B10	23,33	12,86
Média	17,07 ± 3,84	12,39 ± 1,85	Média	19,66 ± 1,64	13,01 ± 0,55

7. Discussões

7.1. Estudo das epífises

O estudo das propriedades físicas dos tecidos ósseo compacto e trabecular presente nas epífises se mostraram importante devido à grande quantidade de dados oferecidos com a aplicação dos métodos.

Na observação da figura 9 fica evidente a diferença de densidade entre os tecidos compacto (presente nas laterais da curva central) e trabecular (porção central da curva), mostrando a rápida diferenciação do tecido ósseo interno e externo. Esta diferença é causada principalmente pela grande presença de matriz óssea não mineralizada na porção central de sua estrutura.

O gráfico da figura 9 mostra uma alta densidade óssea nas regiões de tecido compacto da amostra $A_{\text{sec.total}}$ ($\sim 2,23 \text{ g/cm}^3$), diferente dos resultados obtidos pelo método de imersão ($\sim 1,96 \text{ g/cm}^3$). Esta diferença, com maior erro de 13,7% e menor de 9,69 % são estatisticamente compatíveis, estando os resultados sob influência de considerações de espessura média porque as amostras não apresentavam espessura constante e coeficiente mássico de atenuação médio prévio estabelecido para formação dos gráficos de densidade ponto a ponto.

Os valores encontrados de coeficiente de atenuação mássico da radiação nas duas amostras na região de osso compacto, $0,33 \text{ cm}^2/\text{g}$ em $A_{\text{sec.total}}$ e $B_{\text{sec.total}}$, foram também estatisticamente corretos quando comparados a valores fornecidos por tabelas internacionais como NIST ($0,314 \text{ cm}^2/\text{g}$) e ICRP ($0,322 \text{ cm}^2/\text{g}$), resultando discrepâncias inferiores a 5,10 %.

A porosidade, determinada ponto a ponto ao longo de toda a amostra, também foi afetada pelos fatores de consideração espessura média e coeficiente mássico de atenuação médio já que os gráficos da figura 10 foram feitos com bases nos valores de densidade das partículas e densidade aparente presente na figura 9, conforme equação (14). Os valores de porosidade encontrado nas regiões de osso compacto da amostra $A_{\text{sec.total}}$ são decorrentes do alto valor de densidade aparente (ρ) que nesta se aproximaram do valor de densidade das partículas (ρ_p).

As variações de porosidade encontrado nas regiões centrais das amostras $A_{\text{sec.total}}$ e $B_{\text{sec.total}}$ apresentam respectivamente médias de 83,6% e 72,5% com desvio padrão de $\pm 6,6 \%$ e $\pm 7,05 \%$. Os valores de porosidade média determinados nos resultados

apresentaram altos valores de desvio padrão por conterem tanto valores de porosidade em tecido ósseo compacto quanto trabecular.

Comparando os valores de porosidade média encontrado nos resultados para os dois tecidos com a literatura mostraram que a determinação da porosidade média através da equação (14), método de imersão e método do picnômetro são aceitáveis com bons resultados quando comparado à determinação da porosidade feita através dos coeficientes de atenuação da radiação como mostram os valores obtidos por (Yoshikawa, 2007) De acordo com o autor, os resultados de porosidade obtidos foram oscilatórios ao redor de 60%, enquanto os obtidos no presente trabalho flutuaram em aproximadamente 67%.

7.2. Amostras

O estudo do conjunto de amostras dos animais 1 e 2 foram trabalhados com a perspectiva de determinar a aplicabilidade dos métodos em amostras biológicas como o tecido ósseo e verificar a influência de alguns parâmetros sobre as propriedades determinadas tais como aspectos biológicos (idade) e físicos (umidade).

A determinação do volume das amostras pelo método de Archimedes ou método de imersão pôde mostrar através dos valores obtidos sua precisão em amostras de baixa porosidade.

Os resultados de densidade das partículas presente na tabela 5 juntamente com os resultados de densidade das partículas obtidos nas amostras preliminares pela tabela 2 indicaram que o método se mostrou aplicável nas amostras ósseas. Os valores indicaram ser estáveis se comprometendo intrinsecamente com sua composição estequiométrica, uma vez que medidas feitas utilizando rádio e metacarpo de um mesmo animal em diferentes regiões dos ossos resultaram em valores estatisticamente semelhantes.

O resultado de densidade das partículas das amostras do animal 2 se comportou relativo ao animal 1 em valores ligeiramente menores. Este fato nos levou a conclusão de que sendo o método confiável nestas amostras, a composição química do animal mais jovem resultou em uma densidade menor. Dados do ICRU mostram que a composição química realmente é o maior fator envolvido no valor final da densidade das partículas e que seus valores sofrem aumento com o crescimento do animal.

A figura 11 apresenta o conjunto de gráficos relacionado aos dados obtidos de densidade aparente para os dois animais estudados nas três condições de umidade

utilizadas no trabalho. Uma observação feita sobre a estrutura de poros descrita por (Akar, 2006) faz-se esperar valores crescentes de densidade aparente com o aumento da umidade, sendo confirmada com a obtenção posterior dos dados.

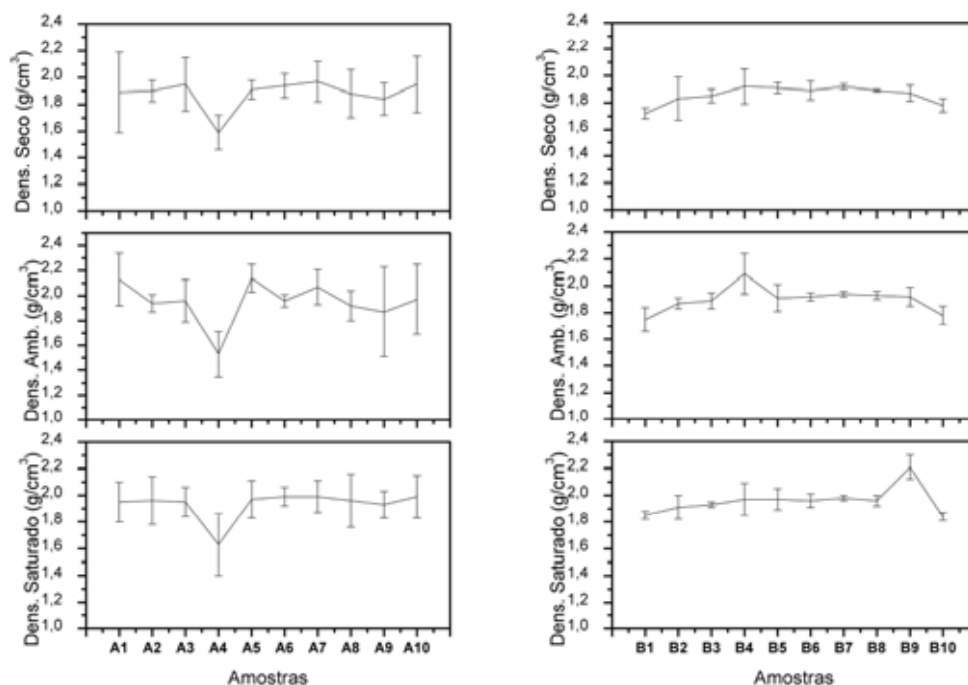


Figura 11. Conjunto de gráficos da densidade aparente (ρ) para os animais 1 (esquerda) e 2 (direita) nas três condições de umidade estudadas (saturado, ambiental e seco).

A variação de densidade nas amostras de acordo com a variação da condição de umidade definiu-se com tendência linear se desconsideradas as amostras A4 nas três condições e B9 na condição saturada. Estas desconsiderações podem ser feitas devido aos possíveis erros experimentais envolvido na determinação da massa e volume destas. A amostra A4 devido ao maior volume obtido, como mostra seu alto valor na tabela 6; A amostra B4 apresentou pequeno aumento de densidade sobressaindo das curvas saturadas e secas, porém estatisticamente correto e; amostra B9 que apresentou já no seu valor de volume saturado uma variação negativa, como é possível observar nos valores da tabela 7.

Os dados da figura 11 tanto para o conjunto de amostras do animal 1 quanto para o conjunto de amostras do animal 2 comportaram de forma linear ao longo de todo o eixo longitudinal das amostras, tendo o animal 2 quedas de densidade nas extremidades ósseas, ou, nas amostras B1, B2, B9 e B10 e que estas ainda, aumentaram seu declínio com a diminuição da umidade. Estes fatores podem ser justificados, devido o animal

mais jovem possuir diferentes concentrações de hidroxiapatita nas extremidades e um aumento da estrutura de microporos nestas regiões.

Este aumento não pôde ser notável nos dados da tabela 5 já que, como já salientado, o método do picnômetro necessita de uma massa de amostra a ser utilizada maior que vinte gramas e sendo o valor de massa das amostras unitárias menores que quatro gramas, a realização deste só foi possível com a trituração de todas as amostras de cada conjunto. Assim, os resultados de porosidade apresentados na tabela 5 seguem as tendências dos estímulos da densidade aparente obtido em cada amostra nos conjuntos.

As figuras 12 e 13 apresenta os gráficos de retratibilidade volumétrica (R_v) em condições ambiente e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{v\text{ máx}}$) para os animais 1 e 2 respectivamente.

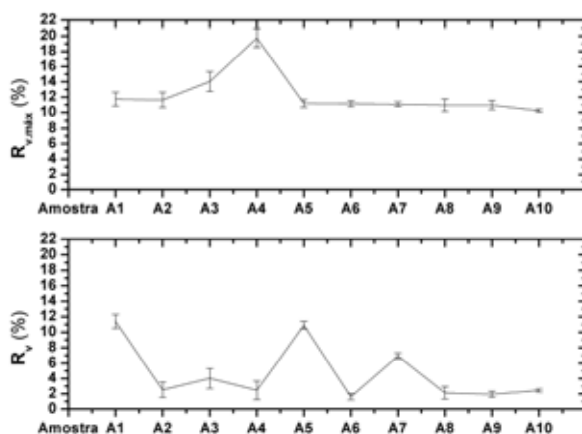


Figura 12. Valores de retratibilidade volumétrica (R_v) e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{v\text{ máx}}$) obtido no conjunto de amostras do animal 1.

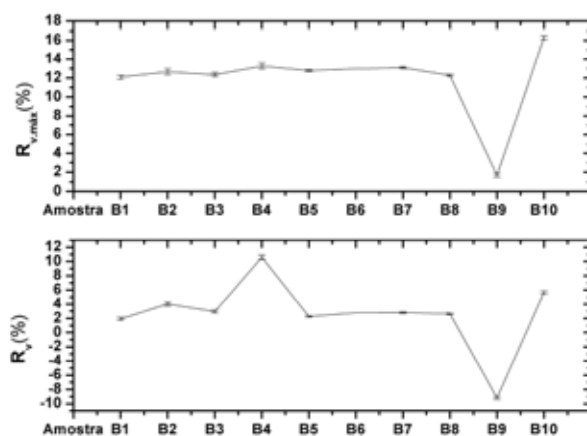


Figura 13. Valores de retratibilidade volumétrica (R_v) e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{v\text{ máx}}$) obtido no conjunto de amostras do animal 2.

Os dados de R_v e $R_{v\text{ máx}}$ presente nas figuras 12 e 12 se comportaram de maneira muito semelhante quando observadas quanto o grau de retratibilidade na condição ambiental, onde permaneceram com flutuações em 3% e na condição de umidade zero com valores que estiveram em 13 %.

Na tabela 10 foi observado que as amostras estiveram em um mesmo grau de umidade na condição ambiental, com valores de 12,39 % para o animal 1 e 13,01 % para o animal 2. Já na condição de umidade de saturação, observou-se que as amostras do animal 1 apresentaram umidade de saturação (17,07 %) inferior à aquelas obtidas nas amostras do animal 2 (19,66 %). Este parâmetro pode ser reforçado como mais um fator de forte influência na consideração da variação da porosidade das amostras do animal 2, conseqüência de uma baixa idade e incompleto desenvolvimento do tecido ósseo quando comparado ao animal 1, de maior idade.

Ao analisar as curvas de retratibilidade volumétrica (R_v) e retratibilidade volumétrica máxima ($R_{v\text{ máx}}$) juntamente com os valores de umidade ambiente (U_{bs} ambiente) e umidade de saturação ($U_{bs\text{ sat.}}$), é possível dizer que existem duas fases de comportamentos diferentes para a perda de volume frente a umidade encontrada na amostra. Isto foi concluído devido ao fato das amostras perderem apenas aproximadamente 2% de seu volume saturado nos primeiros 10% de umidade perdida, sendo os outros 10% perdidos até sua completa secagem.

Outro fator interessante observado na tabela 10 foi à umidade máxima atingida pelas amostras, que não passou dos 25%, refletindo a baixa porosidade do material estudado.

Apresentados na tabela 4, os valores do coeficiente de atenuação de massa da radiação gama do ^{241}Am são apresentados nas diferentes condições de umidade em que foi determinado. Os resultados obtidos com a utilização do método se mostrou exato e preciso. Estas determinações foram possíveis devido à associação de dois fatos. O primeiro é a comparação que pode e deve ser feita dos dados obtidos com as tabelas internacionais do NIST e ICRU sobre estas propriedades. Realizando a mesma comparação destes resultados com os dados citados, verificamos que os erros encontrados utilizando o valor médio encontrado para cada conjunto de amostras nas três condições de umidade foram inferiores a 6,0%.

O segundo fator determinante da precisão do método foi o conjunto de dados obtidos. Para os animais 1 e 2 foram calculados nos dados da tabela 11 os valores

médios em cada condição de umidade com seus respectivos desvio padrão e ao final o valor médio nas três condições.

Tabela 11. Resultados estatísticos do coeficiente de atenuação de massa da radiação gama de ^{241}Am (cm^2/g) obtidos para o conjunto de amostras do animal 1 e 2 nas três condições de umidade estudadas com respectivo valor médio final em cada conjunto.

Amostras	Saturado	Ambiente	Seco	Média três cond.
Animal 1	$0,304 \pm 0,02$	$0,306 \pm 0,02$	$0,305 \pm 0,01$	$0,305 \pm 9,5\text{E-}4$
Animal 2	$0,296 \pm 0,02$	$0,305 \pm 0,02$	$0,300 \pm 0,02$	$0,300 \pm 4,2\text{E-}3$

Algumas variações do coeficiente de atenuação de massa foram observadas, mas nenhuma delas considerada estatisticamente incorreta.

8. Conclusões

O desenvolvimento deste trabalho com o propósito de aplicar este conjunto de metodologias – atenuação da radiação gama; Archimedes; picnômetro - na determinação das propriedades físicas em estrutura de tecido ósseo foi considerado satisfatório e representativo tanto em caráter teórico quanto experimental.

As densidades médias dos ossos compactos encontradas foram $1,93 \pm 0,10 \text{ g/cm}^3$, $1,94 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$ e $1,88 \pm 0,10 \text{ g/cm}^3$ para as amostras saturadas, ambientes e secas respectivamente para o equino adulto. Para o equino jovem foram $1,95 \pm 0,10 \text{ g/cm}^3$, $1,90 \pm 0,09 \text{ g/cm}^3$ e $1,85 \pm 0,06 \text{ g/cm}^3$ para as amostras saturadas, ambientes e secas respectivamente, tendo pequenas diminuições nas extremidades provavelmente devido a diferentes concentrações de hidroxiapatita.

O coeficiente de atenuação de massa médio da radiação gama de 59,6 keV para as amostras de equino adulto e jovem foram $0,305 \pm 9,5\text{E-}4 \text{ cm}^2/\text{g}$ e $0,300 \pm 4,2\text{E-}3 \text{ cm}^2/\text{g}$ respectivamente, não apresentando variações estatisticamente justificadas.

A porosidade média foi de $14,1 \pm 4,81 \%$ e $7,63 \pm 4,82 \%$ nos equino adulto e jovem respectivamente, sendo sua variação inversamente a da densidade.

A retratibilidade volumétrica máxima média foi de $12,2 \pm 2,81 \%$ e $11,9 \pm 3,80 \%$ nos equino adulto e jovem respectivamente.

9. Referências Bibliográficas

[1] CUNHA E SILVA, R. M. et al. Two media method for gamma ray attenuation coefficient measurement of archaeological ceramic sample. **Applied Radiation and Isotopes**, Pergamon, v. 53, p. 1011 – 1016, 2000.

[2] KARJALAINEN, P. A method for determination of the mineral content and mineral density of the distal radius using gamma ray attenuation. **Annals of Clinical Research** 5, p. 231 – 237, 1973.

[3] ALHAVA, E. M. and KARJALAINEN, P. The mineral content and mineral density of bone of the forearms in healthy persons measured by Am-241 gamma ray attenuation method. **Annals of Clinical Research** 5, p. 238 – 243, 1973.

[4] AKAR, A. et al. Measurement of attenuation coefficients for bone, muscle, fat and water at 140, 364 and 662 keV gamma ray energies. **Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer**, Elsevier, v. 102, p. 203 – 211, 2006.

[5] MORGAN, H. M.; SHAKESHAFT, J. T.; LILLICRAP, S. C. Gamma-ray Backscatter for Body Composition Measurement. **Applied Radiation and Isotopes**, Pergamon, v. 49, n. 5/6, p. 555 – 557, 1998.

[6] SALINAS, I. C. P.; CONTI, C. C.; LOPES, R. T. Effective density and mass attenuation coefficient for building material in Brazil. **Applied Radiation and Isotopes**, Elsevier, v. 64, p. 13 – 18, 2006.

[7] SWANPALMERT, J.; KULLENBERG, R.; HANSSON, T. Measurement of bone mineral using multiple-energy x- ray absorptiometry. **Physics Med. Biol.**, n. 43, p. 379 – 387, 1998.

[8] HARRISON, R. M. A computer simulation of the Measurement of Bone Mineral Content by Photon Beam Scanning. **Physics Med. Biol.**, v. 19, n. 1, p. 79 – 85, 1974.

[9] WEBBER, C. E. and KENNETT, T. J. Bone Density Measured by Photon Scattering. I. A System for Clinical Use. **Physics Med. Biol.**, v. 21, n. 5, p. 760 - 769, 1976.

[10] WEBBER, C. E. Photon absorptiometry, bone densitometry and the challenge of osteoporosis. **Physics Med. Biol.**, Inst. Of Physics Publishing, Review v. 51, p. 169 – 185, 2006.

[11] APPOLONI, C. R. and POTTKER, W. E. Non-destructive porosity profile measurement of amorphous materials by gamma-ray transmission. **Applied Radiation and Isotopes**, Elsevier, v. 61, p. 1133 – 1138, 2004.

[12] PFALZNER, P. M. Attenuation Coefficient: Finite or Infinitesimal?. Correspondence, p. 132 – 134, 1975.

[13] COSTA, V. E. **Caracterização físico- energética da madeira e produtividade de reflorestamento de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla***. 2006. 99 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

[14] YOSHIKAWA, D. S. **Medidas de densidade óssea utilizando técnicas nucleares não destrutivas**. 2007. 67 p. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharelado- Física médica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

[15] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7190/97: Projetos de estruturas de madeira**. Rio de Janeiro, 1997.

[16] ICRP 70. Basic Anatomical and Physiological Data for use in Radiological Protection. **International Commission on Radiological Protection**, Pergamon Press, Oxford, 1995.

[17] ICRU 44. Tissues Substitutes in Radiation Dosimetry and Measurement. **International Commission on Radiological Units e Measurements**, Bethesda, USA, MD, 1989.

[18] National Institute of Standart and Technology, **Database of Coefficient Mass of X-ray**. NIST, disponível em [<http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/cover.html>] acessado em 16 de Janeiro de 2008.

[19] JONHS, H. E.; CUNNINGHAM, J. R. **The physics of radiology**, 4 ed. 1983.

[20] YOUNG, H. D.; FREEDMAN, R. A. University Physics, **9 rd edition**, **Addison – Wesley Publishing Company**, New York. 1996.

[21] GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Atlas colorido de Histologia**. 4 ed. Guanabara Koogan, 2007.

Apêndice A

Tabela 1A. Valores de massa (g) encontrado nas amostras do animal 1 nas três condições de umidade presente no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
A1	6,00 ± 0,15	5,79 ± 0,21	5,13 ± 0,30
A2	8,59 ± 0,18	8,29 ± 0,07	7,35 ± 0,08
A3	9,72 ± 0,11	9,40 ± 0,17	8,38 ± 0,20
A4	14,61 ± 0,23	13,41 ± 0,18	11,47 ± 0,13
A5	6,51 ± 0,14	6,32 ± 0,11	5,63 ± 0,07
A6	14,66 ± 0,07	14,19 ± 0,05	12,68 ± 0,09
A7	10,65 ± 0,12	10,31 ± 0,14	9,36 ± 0,15
A8	14,68 ± 0,20	14,1 ± 0,12	12,57 ± 0,18
A9	16,00 ± 0,10	15,28 ± 0,36	13,58 ± 0,12
A10	7,38 ± 0,16	7,14 ± 0,28	6,48 ± 0,21

Tabela 2A. Valores de massa (g) encontrado nas amostras do animal 2 nas três condições de umidade presente no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
B1	2,90 ± 0,03	2,70 ± 0,09	2,38 ± 0,04
B2	3,32 ± 0,09	3,13 ± 0,04	2,78 ± 0,16
B3	3,28 ± 0,02	3,12 ± 0,06	2,76 ± 0,05
B4	2,98 ± 0,12	2,82 ± 0,15	2,51 ± 0,13
B5	2,62 ± 0,08	2,48 ± 0,10	2,21 ± 0,04
B6	2,12 ± 0,05	2,02 ± 0,03	1,78 ± 0,07
B7	2,12 ± 0,02	2,02 ± 0,00	1,79 ± 0,02
B8	2,24 ± 0,04	2,14 ± 0,03	1,89 ± 0,01
B9	2,65 ± 0,09	2,52 ± 0,07	2,21 ± 0,06
B10	2,59 ± 0,03	2,37 ± 0,07	2,10 ± 0,05

Tabela 3A. Valores da espessura (mm) encontrado nas linhas das amostras selecionadas do animal 1 e 2.

Animal 1	Linhas	Espessura (mm)	Animal 2	Linhas	Espessura (mm)
A1	L1	0,33 ± 0,00	B1	L1	0,38 ± 0,03
	L2	0,34 ± 0,00		L2	0,37 ± 0,02
	L3	0,34 ± 0,00		L3	0,30 ± 0,01
	L4	0,38 ± 0,01		L4	0,30 ± 0,04
A4	L1	0,88 ± 0,04	B4	L1	0,47 ± 0,02
	L2	0,89 ± 0,03		L2	0,52 ± 0,00
	L3	0,82 ± 0,01		L3	0,47 ± 0,01
	L4	0,70 ± 0,00		L4	0,43 ± 0,02
A7	L1	0,74 ± 0,03	B7	L1	0,45 ± 0,01
	L2	0,75 ± 0,00		L2	0,45 ± 0,00
	L3	0,78 ± 0,02		L3	0,43 ± 0,01
	L4	0,73 ± 0,01		L4	0,41 ± 0,00
A10	L1	0,48 ± 0,14	B10	L1	0,36 ± 0,01
	L2	0,54 ± 0,02		L2	0,39 ± 0,03
	L3	0,64 ± 0,00		L3	0,38 ± 0,01
	L4	0,60 ± 0,00		L4	0,38 ± 0,02

Tabela 4A. Valores do volume (cm³) encontrado nas amostras do animal 1 nas três condições de umidade estudadas no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
A1	3,07 ± 0,09	2,72 ± 0,07	2,71 ± 0,06
A2	4,38 ± 0,10	4,27 ± 0,03	3,87 ± 0,07
A3	4,99 ± 0,13	4,79 ± 0,06	4,29 ± 0,09
A4	8,97 ± 0,12	8,75 ± 0,10	7,2 ± 0,10
A5	3,31 ± 0,05	2,95 ± 0,04	2,94 ± 0,05
A6	7,37 ± 0,04	7,25 ± 0,04	6,55 ± 0,04
A7	5,34 ± 0,03	4,97 ± 0,04	4,75 ± 0,06
A8	7,5 ± 0,08	7,34 ± 0,08	6,68 ± 0,07
A9	8,31 ± 0,02	8,15 ± 0,04	7,4 ± 0,06
A10	3,71 ± 0,02	3,62 ± 0,02	3,33 ± 0,01

Tabela 5A. Valores do volume (cm³) encontrado nas amostras do animal 2 nas três condições de umidade estudadas no trabalho.

	Saturado	Ambiente	Seco
B1	1,57 ± 0,02	1,54 ± 0,01	1,38 ± 0,01
B2	1,74 ± 0,03	1,67 ± 0,01	1,52 ± 0,02
B3	1,7 ± 0,01	1,65 ± 0,01	1,49 ± 0,02
B4	1,51 ± 0,03	1,35 ± 0,02	1,31 ± 0,02
B5	1,33 ± 0,01	1,30 ± 0,00	1,16 ± 0,01
B6	1,08 ± 0,00	1,05 ± 0,00	0,94 ± 0,00
B7	1,07 ± 0,01	1,04 ± 0,01	0,93 ± 0,00
B8	1,14 ± 0,01	1,11 ± 0,01	1,00 ± 0,01
B9	1,2 ± 0,01	1,31 ± 0,00	1,18 ± 0,02
B10	1,41 ± 0,02	1,33 ± 0,00	1,18 ± 0,01

Apêndice B

Tabela 1B. Valores médios das contagens de feixe I₀ e I em contagens por minuto com seus respectivos desvio padrão para o conjunto de amostras do animal 1 e 2 nas três condições de umidade estudadas no trabalho.

	Animal 1						Animal 2							
	Umido			Seco			Umido			Seco				
	média	desvio		média	desvio		média	desvio		média	desvio			
A1	L1	lo	4600	65	4793	60	4756	67	4552	59	4683	72	4907	84
		I	3699	74	3986	60	3950	71	3727	85	3800	94	4030	96
	L2	lo	4567	63	4766	61	4749	62	4520	64	4683	77	4623	62
		I	3698	67	3783	93	3794	66	3652	85	3845	77	3769	78
A4	L3	lo	3990	78	4785	72	4749	78	4878	65	4663	63	4609	66
		I	3230	66	3968	75	3974	66	4049	70	3917	66	3919	68
	L4	lo	4028	80	4758	85	4738	61	4875	72	4660	76	4588	80
		I	3290	69	3898	71	3807	74	3978	99	3826	107	3893	86
A7	L1	lo	3583	117	4736	70	4735	108	4549	68	4675	74	4905	79
		I	2448	154	2717	86	2757	68	3343	82	3442	42	3618	70
	L2	lo	3823	125	4690	109	4753	68	4531	63	4665	66	4612	65
		I	2285	119	2737	86	2815	68	3369	88	3446	62	3490	110
A10	L3	lo	4138	92	4280	76	4679	84	4869	55	4645	70	4628	68
		I	2317	85	2570	81	2879	58	3713	88	3492	67	3469	60
	L4	lo	4276	112	4549	145	4734	58	4854	129	4605	70	4623	81
		I	2766	51	2994	60	3002	48	3762	61	3551	67	3538	53
A1	L1	lo	4508	92	4705	73	4768	65	4555	57	4605	61	4930	69
		I	2801	155	2863	208	2949	188	3624	105	3531	69	3794	51
	L2	lo	4555	83	4789	66	4734	72	4520	60	4603	61	4621	71
		I	2461	333	2899	55	3098	79	3405	58	3524	91	3591	88
A7	L3	lo	4542	66	4684	91	4750	56	4841	73	4597	53	4629	56
		I	2848	63	3002	55	3024	62	3741	64	3536	70	3537	74
	L4	lo	4557	96	4645	64	4743	66	4829	91	4606	59	4609	68
		I	2907	64	2994	54	3115	60	3802	68	3509	65	3606	73
A10	L1	lo	4646	75	4537	117	4766	74	4568	68	4553	66	4627	70
		I	3523	157	3338	268	3653	157	3711	57	3586	65	3765	56
	L2	lo	4647	89	4662	72	4745	75	4534	64	4542	58	4617	57
		I	3318	96	3305	67	3420	91	3675	61	3741	54	3802	70
A10	L3	lo	4663	71	4556	98	4749	75	4857	65	4561	66	4615	62
		I	3155	67	3052	103	3315	43	3920	67	3751	65	3830	67
	L4	lo	4607	141	4643	68	4730	77	4878	59	4559	56	4627	70
		I	3145	59	3174	64	3300	66	4553	66	3698	58	3765	56

