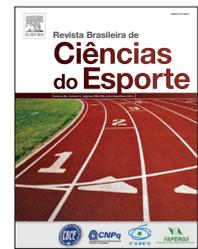




Revista Brasileira de
CIÊNCIAS DO ESPORTE

www.rbceonline.org.br



ARTIGO ORIGINAL

Treinamento em corrida de baixa intensidade: propriedades estruturais e mecânicas da epífise proximal do fêmur de ratas osteopênicas

Bárbara Braga Fernandes Maia^{a,*}, Ricardo Junqueira Del Carlo^b, Lucas Rios Drummond^c, Maria do Carmo Gouveia Pelúzio^d, Carlos Henrique Osório Silva^e, Mário Jefferson Quirino Louzada^f, Judson Fonseca Quintão Junior^g, Victor Neiva Lavorato^g, Regiane Maria Soares Ramos^g, Antônio José Natali^g

^aPrograma de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

^bDepartamento de Veterinária, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

^cPrograma de Pós-Graduação Associado em Educação Física, Departamento de Educação Física, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

^dDepartamento de Nutrição e Saúde, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

^eDepartamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

^fDepartamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, SP, Brasil

^gDepartamento de Educação Física, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

Recebido em 2 de julho de 2012; aceito em 5 de julho de 2013

PALAVRAS-CHAVE

Atividade física;
Ovariectomia;
Osteoporose;
Propriedades ósseas

Resumo Este estudo investigou os efeitos do treinamento em corrida de baixa intensidade (TCBI) sobre propriedades estruturais e mecânicas da epífise proximal do fêmur de ratas osteopênicas. Ratas Wistar [idade = 20 semanas; massa corporal = 271,42 ± 17,6 g] foram submetidas à ovariectomia (OVX) ou laparotomia (SHAM) e alocadas em quatro grupos: corrida OVX (CO, n = 12), controle OVX (CONO, n = 12), corrida SHAM (CS, n = 12) e controle SHAM (CONS, n = 12). Quinze dias pós-cirurgia, os grupos CO e CS foram submetidos ao TCBI em esteira (16 m/min, 60 min/dia, cinco dias/semana) por 10 semanas. O TCBI não alterou os efeitos deletérios da osteopenia induzida por ovariectomia sobre a densidade mineral do fêmur, a quantidade de osso trabecular no trocanter e colo do fêmur, a tenacidade e a força máxima de fratura do colo do fêmur de ratas. © 2014 Colégio Brasileiro de Ciências do Esporte. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

KEYWORDS

Physical activity;
Ovariectomy;
Osteoporosis;
Bone properties

Low-intensity running training: structural and mechanical properties of the proximal femoral epiphysis in osteopenic female rats

Abstract This study investigated the effects of low-intensity running training (LIRT) on the structural and mechanical properties of the proximal femoral epiphysis in osteopenic female rats. Female Wistar rats [age = 20 weeks, body mass = 271.42 ± 17.6 g] were subjected to ovariectomy (OVX) or laparotomy (SHAM) and divided into four groups: running OVX (RO, n = 12),

* Autor para correspondência.

E-mail: Barbara_bbf@yahoo.com.br (B.B.F. Maia).

PALABRAS CLAVE

Actividad física;
Ooforectomia;
Osteoporosis;
Propiedades del hueso

control OVX (CO, n = 12), running SHAM (RS, n = 12) and control SHAM (CS, n = 12). Two weeks after surgery RO and RS groups were submitted to a progressive LITR on a treadmill (60 min / day, 5 days / week) for 10 weeks. The LITR did not alter the deleterious effects induced by ovariectomy on the femoral bone mineral density, the quantity of trabecular bone in the femoral great trochanter and neck, and femoral neck tenacity and resistance to fracture in female rats.
© 2014 Colégio Brasileiro de Ciências do Esporte. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Entrenamiento en carrera de baja intensidad: propiedades estructurales y mecánicas de la epífisis proximal femoral de ratas osteopénicas

Resumen Este estudio investigó los efectos del entrenamiento en carrera de baja intensidad (ECBI) en las propiedades estructurales y mecánicas de la epífisis proximal femoral de ratas osteopénicas. Ratas Wistar con edad de 20 semanas (peso corporal: $271.42 \pm 17,6$ g) fueron sometidas a ooforectomía (OVX) o laparotomía (SHAM) y asignados en cuatro grupos: carrera OVX (CO, n = 12), control OVX (CONO, n = 12), carrera SHAM (CS, n = 12) y control SHAM (CONS, n = 12). Quince días después de la cirugía los grupos CO y CS fueron sometidos al ECBI (16 m/min; 60 min/día, 5 días/semana) durante 10 semanas. El ECBI no cambió los efectos deletéreos de la osteopenia inducida por ooforectomía sobre la densidad mineral del fémur, la cantidad de hueso trabecular en el trocánter y cuello del fémur, la tenacidad y la resistencia ósea a la fractura del cuello del fémur de ratas.

© 2014 Colégio Brasileiro de Ciências do Esporte. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos los derechos reservados.

Introdução

A osteoporose é caracterizada por perda gradual de massa óssea, que enfraquece os ossos por deterioração da microarquitetura tecidual, tornando-os mais frágeis e suscetíveis a fraturas. Estima-se que uma em cada duas mulheres e um em cada quatro homens com mais de 50 anos de idade terá alguma experiência de fratura relacionada à osteoporose (Iwamoto *et al.*, 2005; Tosteson *et al.*, 2008; Gamage *et al.*, 2009). Na população osteoporótica, 53% das fraturas de quadril ocorrem no colo do fêmur (Thorngren *et al.*, 2002). No Brasil, a incidência de fraturas no colo do fêmur é de 72,5% em mulheres e de 27,4% em homens (Mesquita *et al.*, 2009).

Fatores diversos, como a predisposição genética, o sedentarismo, o consumo de álcool e cafeína, a deficiência de vitamina D, as disfunções tireoidianas e a deficiência de estrogênio após a menopausa induzem ao declínio na densidade mineral óssea (DMO) e aumentam o risco de desenvolvimento de osteoporose (Cohen; Roe, 2000; Hart *et al.*, 2001; Gamage *et al.*, 2009; Maddalozzo *et al.*, 2009). A deficiência de estrogênio provoca importantes alterações no metabolismo lipídico e na distribuição da gordura corporal (Saengsirisuwan *et al.*, 2009).

Todavia, esta doença pode ser prevenida ou retardada com a maximização do pico de massa óssea por meio de modificações no estilo de vida, como a dieta e a atividade física (Soot *et al.*, 2005; Bergmann *et al.*, 2011). As forças de tensão, compressão e cisalhamento geradas pelo suporte da massa corporal e pelas contrações musculares durante o exercício físico constituem estímulos importantes para a formação óssea (Bergmann *et al.*, 2011) e desempenham papel importante para minimizar a perda óssea em mulheres pós-menopausa (Chien *et al.*, 2000; Von Stengel *et al.*,

2011) e em ratas ovariectomizadas (Barengolts *et al.*, 1994; Honda *et al.*, 2003; Ocarino *et al.*, 2007).

Estudos demonstraram que o exercício físico aumenta a DMO e a massa e a força ósseas em humanos (Chien *et al.*, 2000; Bergström *et al.*, 2008) e animais jovens (Iwamoto *et al.*, 1999; Hart *et al.*, 2001; Honda *et al.*, 2003; Iwamoto *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2011). As alterações nas propriedades estruturais e mecânicas no osso trabecular ocorrem em consequência da tensão e da força mecânica exercidas pelas contrações musculares causadas durante o exercício (Swift *et al.*, 2011).

Tanto os exercícios aeróbicos, como a caminhada, a corrida (Borer *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2008) e a natação (Huang *et al.*, 2003; Melton *et al.*, 2004), quanto exercícios resistidos (Bennell *et al.*, 2000; Notomi *et al.*, 2000; Leite *et al.*, 2010), saltos verticais (Honda *et al.*, 2003; Umemura *et al.*, 2008) e escalada (Notomi *et al.*, 2001) promovem estímulos osteogênicos. Todavia, não há consenso sobre o modelo e a intensidade do exercício a ser utilizado na prevenção e tratamento da perda de massa óssea associada à menopausa. Alguns estudos demonstraram que os exercícios aeróbicos de moderada intensidade e com sobrecarga são os mais efetivos (Tromp *et al.*, 2006; Bonnet *et al.*, 2007); outros afirmaram que o exercício de alto impacto tem um significativo efeito na massa óssea (Honda *et al.*, 2003; Nagasawa *et al.*, 2008). Porém, o tipo de exercício mais acessível para pacientes com osteopenia são os contínuos de baixa intensidade. Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar a influência de um programa de corrida de baixa intensidade sobre propriedades estruturais e mecânicas da epífise proximal do fêmur de ratas com osteopenia induzida por ovariectomia.

Materiais e métodos

Animais

Ratas Wistar adultas (idade: 20 semanas; massa corporal média: $271,42 \pm 17,6$ g) foram alojadas em sala com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de aproximadamente 60% e fotoperíodo invertido de 12 horas claro/escuro. Os animais permaneceram em gaiolas individuais e receberam, diariamente, 18 a 20g de ração comercial e água *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (parecer nº 02/2009).

Vinte e quatro ratas foram submetidas à ovariectomia (OVX), e outras vinte e quatro, à laparotomia, sem a retirada dos ovários (SHAM). Para os procedimentos, as ratas foram anestesiadas (cetamina, 20mg/kg e xilazina, 2,71mg/kg IM) e, após a cirurgia, receberam uma dose de anti-inflamatório (flunixin meglumina, 0,68mg/kg IM) e outra de antibiótico (enrofloxacin, 2,71mg/kg IM). Em seguida, as ratas OVX foram divididas aleatoriamente em dois grupos: grupo corrida OVX (CO, n = 12) e grupo controle OVX (CONO, n = 12); e as ratas SHAM foram divididas aleatoriamente em dois grupos: grupo corrida SHAM (CS, n = 12) e grupo controle SHAM (CONS, n = 12).

Protocolo de exercício

Quinze dias após as cirurgias, os animais dos grupos CO e CS foram submetidos, por 10 semanas, a um programa progressivo de corrida em esteira rolante elétrica (Esteira Insight Instrumentos - Ribeirão Preto, SP, Brasil; adaptado de Iwamoto *et al.*, 2004) (tabela 1).

Tabela 1 Protocolo de corrida em esteira.

| Semana | Velocidade (m/min) | Inclinação (graus) | Duração (min) |
|-----------------|--------------------|--------------------|---------------|
| 1 ^a | 10m/min | 0 | 30 |
| 2 ^a | 15m/min | 0 | 50 |
| 3 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 4 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 5 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 6 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 7 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 8 ^a | 16m/min | 0 | 60 |
| 9 ^a | 16m/min | 10 | 60 |
| 10 ^a | 16m/min | 10 | 60 |

Avaliação do desempenho físico dos animais

Para avaliar a eficiência do treinamento na melhora do desempenho físico das ratas, todas foram submetidas a um teste de resistência a corrida 48 horas após a última sessão de treino. Após período de adaptação, os animais foram colocados na esteira e correram à velocidade de 10m/min, com inclinação de 15° na esteira (adaptado de Hussain *et al.*, 2001) o maior tempo possível, até a exaustão. A velocidade da esteira foi aumentada em 1 m/min a cada 2 min. A exaustão foi identificada quando o animal não mais conseguia correr e ficava apoiado na esteira por mais de cinco segundos. O tempo máximo de corrida foi adotado como desempenho físico para a corrida.

Determinação da fosfatase alcalina óssea

Quarenta e oito horas após o teste de desempenho na esteira, os animais sofreram eutanásia, e uma amostra de sangue (2mL) foi coletada por punção cardíaca, transferida para tubo de ensaio e centrifugada. O soro foi armazenado em freezer (-80°C) para posterior análise da concentração sérica de fosfatase alcalina óssea, um marcador de formação óssea. Esta análise foi realizada por meio da técnica de quimioluminescência indireta (Access® - EUA), a partir da curva padrão de 6 pontos, usando-se kit comercial (Ostase®, Beckman Coulter - EUA). Os resultados foram expressos em picograma/mililitro (pg/mL).

Determinação da densidade mineral óssea

Para o procedimento, após a eutanásia, o fêmur direito foi removido, e o osso, livre dos tecidos moles, foi envolvido em gaze embebida em solução salina e armazenado em freezer (-20°C). No dia da análise da densidade mineral óssea (DMO), o osso foi descongelado em temperatura ambiente por aproximadamente duas horas antes da mensuração, para a qual foi utilizado um densitômetro ósseo de raios-X (LUNAR DPX-ALPHA® - EUA) equipado com software para pequenos animais. A DMO foi obtida após a mensuração da área e do conteúdo mineral ósseo (CMO) do fêmur, usando-se a equação $\text{DMO (g/cm}^2\text{)} = \text{CMO (g)}/\text{área (cm}^2\text{)}$.

Histomorfometria óssea

As análises histomorfométricas foram realizadas no fêmur esquerdo, que foi removido após eutanásia e, livre dos tecidos moles, fixado em formol tamponado. Posteriormente, o fêmur foi colocado em cuba descalcificadora contendo solução com citrato de sódio, água destilada e ácido fórmico. Após a descalcificação, foram feitos cortes transversais e longitudinais, removendo-se o trocanter maior e o colo, junto com a cabeça do fêmur. Esses fragmentos foram colocados novamente na cuba descalcificadora, agora armazenados em cassetes. Posteriormente, os fragmentos foram colocados em álcool 70%, 80% e 90%, em álcool absoluto e xilol em partes iguais e xilol absoluto, para posterior inclusão em parafina. Em seguida, foram obtidos cortes de $5\ \mu\text{m}$ de espessura, que foram montados em lâminas histológicas e corados com Hematoxilina e Eosina.

A análise histomorfométrica dos cortes histológicos foi feita usando o sistema para análises *Image-Pro Plus*, versão 4.5.0.29. As imagens foram digitalizadas por meio de um fotomicroscópio (*Olympus Biological CX31*), com ocular de 10x e objetiva de

20x para análise do osso trabecular (programa *analysis® getIT*). Para a quantificação do osso trabecular no trocanter maior e colo do fêmur, foram feitas cinco imagens por animal, em campos distintos, para garantir maior fidelidade dos resultados encontrados. Foram contados 100 pontos por imagem capturada, distribuídos sobre o tecido ósseo e outros componentes (tecido mieloide). Foi mensurada toda a região que continha o tecido ósseo, e utilizada a média simples dos pontos como resultado.

Determinação da resistência óssea a fratura

A resistência do colo do fêmur a fratura foi realizada no fêmur direito após a determinação da DMO, conforme Vicentini *et al.* (2007). O colo do fêmur foi submetido ao ensaio mecânico em máquina universal de ensaio (EMIC®, modelo DL 3000*), com carga aplicada a uma velocidade de 5mm/min. A amostra foi fixada em posição vertical por um aparato mecânico, e um sistema computadorizado acoplado ao aparelho registrou a força (carga) e o deslocamento, sendo possível controlar todos os parâmetros do ensaio mecânico (força de fratura e tenacidade) e obter o valor da força referente a cada deslocamento. A aquisição desses pontos foi realizada em intervalos padronizados de tempos definidos pelo programa. Os dados da tenacidade e da força máxima de fratura do colo do fêmur foram normalizados pela massa corporal e estão apresentados em J/g e N/g, respectivamente.

Análise estatística

A pressuposição de homogeneidade de variâncias entre os grupos foi checada (Kolmogorov-Smirnov) e, quando não atendida, optou-se pelo procedimento não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Para o procedimento paramétrico, adotou-se a ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey. Adotou-se o nível de significância de até 5%. Todas as análises foram implementadas no software SAS (*Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.*, Cary, NC, EUA - versão 9.2), licenciado para a Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 2011.

Resultados

Desempenho físico dos animais

As ratas OVX treinadas em corrida apresentaram maior ($p < 0,05$) tempo de corrida até a exaustão (desempenho físico) em relação às respectivas controles (CO = $18,0 \pm 7,3$ min vs. CONO = $5,0 \pm 1,4$ min). Nas ratas SHAM, a diferença nos tempos máximos de corrida não foi estatisticamente diferente (CS = $18,8 \pm 6,3$ min vs. CONS = $13,8 \pm 6,6$ min; $p > 0,05$).

Massa corporal

No início do experimento, não houve diferença de massa corporal entre os animais dos quatro grupos (tabela 2). Porém, ao final do experimento, os animais OVX apresentaram maior ($p < 0,05$) massa corporal em relação aos SHAM ($335,93 \pm 23,70$ g vs $299,28 \pm 23,40$ g, respectivamente), independentemente do fator exercício. Não foi observado efeito do exercício (CORRIDA = $312,61 \pm 20,91$ g vs CONTROLE = $322,52 \pm 36,50$ g) e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício para a massa corporal final ($p > 0,05$).

Ostase sérica e densidade mineral óssea

As ratas OVX apresentaram menores ($p < 0,05$) níveis de ostase em relação aos animais SHAM ($20,82$ pg/mL vs $53,01$ pg/mL, respectivamente), independentemente do fator exercício. Entretanto, não foi observado efeito do exercício (CORRIDA = $29,00$ pg/mL vs CONTROLE = $27,86$ pg/mL) e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$; tabela 3).

As ratas OVX apresentaram DMO reduzida em comparação com as SHAM ($0,226 \pm 0,010$ g/cm² vs $0,234 \pm 0,017$ g/cm², respectivamente), independentemente do fator exer-

Tabela 2 Massa corporal.

| | CO (n = 12) | CS (n = 12) | CONO (n = 12) | CONS (n = 12) |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Inicial (g) | 269,70 ± 19,31 | 271,80 ± 16,91 | 272,00 ± 17,80 | 271,10 ± 18,11 |
| Final (g) | 324,6 ± 15,81 | 300,60 ± 18,61 | 347,31 ± 25,50 | 297,80 ± 28,22 |

Dados expressos em média ± desvio padrão. CO, corrida OVX; CS, corrida SHAM; CONO, controle OVX; CONS, controle SHAM; n, número de animais. ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey.

Tabela 3 Ostase sérica e densidade mineral óssea do fêmur.

| Grupos | Ostase (pg/mL) | DMO (g/cm ²) |
|---------------|----------------|--------------------------|
| CO (n = 12) | 14,40 | 0,227 ± 0,008 |
| CS (n = 12) | 53,01 | 0,237 ± 0,015 |
| CONO (n = 12) | 22,63 | 0,225 ± 0,012 |
| CONS (n = 12) | 55,37 | 0,229 ± 0,018 |

Dados da ostase expressos em mediana (Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn). Dados da densidade mineral óssea (DMO) expressos em média ± desvio padrão (ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey). CO, corrida OVX; CS, corrida SHAM; CONO, controle OVX; CONS, controle SHAM; n, número de animais.

cício; porém, essa redução não atingiu significância estatística ao nível de 5% ($p = 0,08$). Não foi observado efeito do fator exercício (CORRIDA = $0,233 \pm 0,013 \text{ g/cm}^2$ vs CONTROLE = $0,227 \pm 0,016 \text{ g/cm}^2$), e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$; tabela 3).

Histomorfometria do fêmur

As ratas OVX apresentaram menos ($p < 0,05$) osso trabecular que as SHAM, tanto no trocanter ($213,58 \pm 53,68$ pontos vs $266,73 \pm 41,25$ pontos, respectivamente) como no colo do fêmur ($235,42 \pm 29,57$ pontos vs $293 \pm 44,36$ pontos, respectivamente), independentemente do fator exercício ($p > 0,05$; tabela 4). Entretanto, não foram observados efeitos do fator exercício no trocanter (CORRIDA = $242,09 \pm 55,81$ pontos vs CONTROLE = $236,17 \pm 55,24$ pontos) e no colo do fêmur (CORRIDA = $276,17 \pm 51,85$ pontos vs CONTROLE = $252,25 \pm 40,64$ pontos), e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício.

Resistência óssea à fratura

As ratas OVX apresentaram menor ($p < 0,05$) tenacidade no colo do fêmur, em comparação com as SHAM ($0,191 \pm 0,053 \cdot 10^{-3} \text{ J/g}$ vs $0,225 \pm 0,062 \cdot 10^{-3} \text{ J/g}$, respectivamente), independentemente do fator exercício. Todavia, não foi observado efeito do fator exercício (CORRIDA = $0,204 \pm 0,061 \cdot 10^{-3} \text{ J/g}$ vs CONTROLE = $0,212 \pm 0,059 \cdot 10^{-3} \text{ J/g}$) e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$; tabela 5).

Da mesma forma, as ratas OVX apresentaram menor ($p < 0,05$) força máxima de fratura no colo do fêmur que as SHAM ($0,447 \pm 0,148 \text{ N/g}$ vs $0,615 \pm 0,200 \text{ N/g}$, respectivamente), independentemente do fator exercício. Porém, não foi observado efeito do fator exercício (CORRIDA = $0,510 \pm 0,172 \text{ N/g}$ vs CONTROLE = $0,552 \pm 0,214 \text{ N/g}$) e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$; tabela 5).

Discussão

Este estudo foi desenhado para investigar os efeitos de um programa de corrida de baixa intensidade sobre propriedades estruturais e mecânicas do colo do fêmur de ratas com osteopenia induzida por ovariectomia.

Inicialmente, destaca-se a eficiência do modelo usado na indução da osteopenia. As ratas OVX apresentaram menores valores de fosfatase alcalina óssea que as SHAM. A maior concentração deste marcador nas ratas SHAM demonstra que estas apresentaram maior taxa de formação óssea em relação às OVX. A deficiência de estrogênio em ratas OVX resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea temporariamente sem contraposição, o que resulta em osteopenia (Tromp *et al.*, 2006; Bonnet *et al.*, 2007; Fuchs *et al.*, 2007; D'Amelio *et al.*, 2008). Como consequência da deficiência de estrogênio, as ratas OVX apresentaram maior massa corporal em relação às ratas SHAM. O maior ganho de massa corporal ocorre em resposta a alterações no metabolismo lipídico provocadas pela deficiência de estrogênio (Shinoda *et al.*, 2002; Saengsirisuwan *et al.*, 2009). Todavia, esse aumento da massa corporal não interferiu nas propriedades ósseas analisadas no presente estudo.

A deficiência de estrogênio induzida pela ovariectomia não afetou significativamente a DMO ao exame de densitometria, provavelmente porque o tempo em que o fêmur ficou sob influência de baixos níveis de estrogênio não foi suficiente para causar redução importante na DMO. Houve, porém, uma tendência ($p = 0,08$) entre as ratas OVX de apresentarem DMO reduzida em relação às SHAM, o que reflete uma taxa de formação óssea menos expressiva nas ratas OVX no tempo testado. A deficiência de estrogênio acelera a reabsorção óssea e resulta em rápida perda óssea, com aumento do *turnover* ósseo (Tromp *et al.*, 2006). O treinamento em corrida de baixa intensidade aplicado, por sua vez, não afetou a DMO

Tabela 4 Quantidade de osso trabecular em diferentes regiões do fêmur.

| Grupos | Trocanter (pontos) | Colo (pontos) |
|---------------|--------------------|---------------|
| CO (n = 12) | 200,3 ± 34,72 | 237,2 ± 33,20 |
| CS (n = 12) | 292,2 ± 22,94 | 315,2 ± 34,07 |
| CONO (n = 12) | 226,8 ± 68,64 | 233,7 ± 28,53 |
| CONS (n = 12) | 245,5 ± 42,35 | 270,8 ± 44,61 |

Dados expressos em média ± desvio padrão. CO, corrida OVX; CS, corrida SHAM; CONO, controle OVX; CONS, controle SHAM. ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey-Kramer.

Tabela 5 Tenacidade e força máxima de fratura no colo do fêmur.

| Grupos | Tenacidade (10^{-3} J/g) | Força máxima (N/g) |
|---------------|--------------------------------------|--------------------|
| CO (n = 12) | 0,176 ± 0,046 | 0,436 ± 0,099 |
| CS (n = 12) | 0,233 ± 0,061 | 0,584 ± 0,020 |
| CONO (n = 12) | 0,207 ± 0,057 | 0,458 ± 0,019 |
| CONS (n = 12) | 0,217 ± 0,063 | 0,646 ± 0,201 |

Dados expressos em média ± desvio padrão. CO, corrida OVX; CS, corrida SHAM; CONO, controle OVX; CONS, controle SHAM; n, número de animais. ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey.

total do fêmur das ratas ovariectomizadas. Nossos resultados estão de acordo com outros e sugerem que a influência positiva do treinamento de corrida de baixa a moderada intensidade na DMO ocorre em locais específicos - aqueles onde predomina a sustentação do peso (Iwamoto, *et al.*, 1999; Iwamoto *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2010).

Apesar de melhorar o desempenho físico das ratas, o programa de corrida utilizado não foi capaz de atenuar a perda de osso trabecular no trocanter e colo do fêmur observada nas ratas OVX. A deficiência de estrogênio exerce papel relevante na reabsorção óssea e na ação de osteoclastos em mulheres osteoporóticas (D'Amelio *et al.*, 2008). A ausência de efeito do programa pode ter ocorrido porque a resposta do osso trabecular ao exercício difere de acordo com a carga mecânica sofrida pelo osso (Iwamoto *et al.*, 1998; Gala *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2010).

Em relação às propriedades mecânicas, as ratas OVX apresentaram menor força máxima de fratura e tenacidade no colo do fêmur que as SHAM. Os achados refletem a menor quantidade de osso trabecular na região nas ratas OVX. Os animais SHAM, em razão da presença dos ovários e da manutenção dos níveis de estrogênio, apresentaram maiores tenacidade e força máxima de fratura do colo do fêmur do que os OVX. Esses resultados confirmam achados anteriores de que a deficiência de estrogênio acelera a perda de massa e aumenta a fragilidade óssea, induzindo à osteoporose e aumentando o risco de fraturas (Huang *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008). Outros estudos com ratas Sprague-Dawley (Dai *et al.*, 2008) e Wistar (Huang *et al.*, 2008) relataram que a OVX reduziu a resistência óssea à fratura, quando comparada aos animais SHAM, após seis meses de cirurgia.

Do mesmo modo, nas propriedades mecânicas estudadas, o programa de corrida aplicado não atenuou os efeitos deletérios promovidos pela osteopenia induzida por ovariectomia. Esses resultados refletem os anteriores relativos à menor quantidade de osso trabecular e confirmam que o treinamento de corrida usado não trouxe nenhum benefício para o aumento da força e da massa óssea nas ratas ovariectomizadas.

Novos estudos devem ser realizados para verificar se existem relações entre o exercício de corrida e a idade, o tempo pós-ovariectomia e o local do esqueleto, observando a interferência deste em diferentes aspectos.

Por fim, o presente estudo apresenta uma limitação. Não foi possível determinar os níveis de estrogênio nos animais, pois esta medida serviria para confirmar a deficiência do hormônio neste modelo, assim como sua relação com a osteopenia. Todavia, o impacto da deficiência de estrogênio foi verificado pelos baixos níveis de ostease nas ratas ovariectomizadas.

Financiamento

O presente trabalho contou com financiamento da Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Conclusão

O treinamento em corrida de baixa intensidade em esteira não altera os efeitos deletérios da osteopenia induzida por ovariectomia sobre propriedades estruturais e mecânicas da epífise proximal do fêmur de ratas.

Referências

- Barengolts, E.I. *et al.* Effects of endurance exercise on *bone* histomorphometric parameters in intact and ovariectomized rats. *Bone and Mineral*, Ireland, v. 26, n. 2, p. 133-40, aug. 1994.
- Bergmann, P. *et al.* Loading and Skeletal Development and Maintenance. *Journal of Osteoporosis*, New York, v. 2011, p. 1-15. Jan. 2011. doi: 10.4061/2011/786752.
- Bergström, I. *et al.* Physical training preserves *bone* mineral density in postmenopausal women with forearm fractures and low *bone* mineral density. *Osteoporosis International*, Heidelberg, v. 19, n. 2, p. 177-83, feb. 2008.
- Bennell, K. *et al.* Effects of resistance training on *bone* parameters in young and mature rats. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, Australia, v. 27, n. 1-2, p. 88-94, jan-feb. 2000.
- Bonnet, N. *et al.* Combined effects of exercise and propranolol on *bone* tissue in ovariectomized rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, Baltimore, v. 22, n. 4, p. 578-88, apr. 2007.
- Borer, K.T. *et al.* Walking intensity for postmenopausal *bone* mineral preservation and accrual. *Bone*, Boston, v. 41, n. 4, p. 713-21, oct. 2007.
- Chang, T.K. *et al.* The influence of long-term treadmill exercise on *bone* mass and articular cartilage in ovariectomized rats. *BMC Musculoskeletal Disorders*, London, v. 20, n. 11, p. 185, aug. 2010.
- Chen, Y. *et al.* Treadmill training prevents *bone* loss by inhibition of PPARgamma expression but not promoting of Runx2 expression in ovariectomized rats. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v. 111, n. 8, p.1759-67, aug. 2011.
- Chien, M.Y. *et al.* Efficacy of a 24-week aerobic exercise program for osteopenic postmenopausal women. *Calcified Tissue International*, New York, v. 67, n. 6, p. 443-8, dec. 2000.
- Cohen, A.J., Roe, F.J. Review of risk factors for osteoporosis with particular reference to a possible aetiological role of dietary salt. *Food and Chemical Toxicology*, Richmond, v. 38, n. 2-3, p. 237-53, feb-mar. 2000.
- D'Amelio, P. *et al.* Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key mechanism in osteoporosis. *Bone*, Boston, v. 43, n. 1, p. 92-100, jul. 2008.
- Dai, R. *et al.* Effects of genistein on vertebral trabecular *bone* microstructure, *bone* mineral density, microcracks, osteocyte density, and *bone* strength in ovariectomized rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 26, n. 4, p. 342-9, jul. 2008.
- Fuchs, R.K. *et al.* Individual and combined effects of exercise and alendronate on *bone* mass and strength in ovariectomized rats. *Bone*, Boston, v. 41, n. 2, p. 290-6, aug. 2007.
- Gala, J. *et al.* Short- and long-term effects of calcium and exercise on *bone* mineral density in ovariectomized rats. *The British Journal of Nutrition*, Cambridge, v. 86, n. 4, p. 521-7, oct. 2001.
- Gammage, K.L. *et al.* Osteoporosis health beliefs and knowledge in college students: the role of dietary restraint. *Eating Behaviors*, New York, v. 10, n. 1, p. 65-7, jan. 2009.
- Hart, K.J. *et al.* Swim-trained rats have greater *bone* mass, density, strength, and dynamics. *Journal Applied Physiology*, Bethesda, v. 91, n. 4, p. 1663-8, oct. 2001.
- Honda, A. *et al.* High-impact exercise strengthens *bone* in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as sham rats. *Journal Applied Physiology*, Bethesda, v.95, n.3, p.1032-7, sep. 2003.

- Huang, T.H. *et al.* Endurance treadmill running training benefits the biomaterial quality of bone in growing male Wistar rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v.26, n.4, p.350-7, jul. 2008.
- _____. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. *Journal Applied Physiology*, Bethesda, v.95, n.1, p.300-7, jul. 2003.
- Hussain, S.O. *et al.* Cardiac function in rats selectively bred for low- and high-capacity running. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.281, n.6, p.R1787-91, dec. 2001.
- Iwamoto, J., Takeda, T., Ichimura, S. Effect of exercise on tibial and lumbar vertebral bone mass in mature osteopenic rats: bone histomorphometry study. *Journal of Orthopaedic Science*, Tokyo, v. 3, n. 5, p. 257-63, apr. 1998.
- Iwamoto, J., Yeh, J.K., Aloia, J.F. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. *Bone*, Boston, v. 24, n. 3, p. 163-9, mar. 1999.
- Iwamoto, J. *et al.* Effects of treadmill exercise on bone mass, bone metabolism, and calciotropic hormones in young growing rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 22, n. 1, p. 26-31, jan. 2004.
- Iwamoto, J., Takeda, T., Sato, Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Experimental Animals*, Tokyo, v. 54, n. 1, p. 1-6, jan. 2005.
- Leite, R.D. *et al.* Menopause: highlighting the effects of resistance training. *International Journal of Sports Medicine*, Germany, v. 31, n. 11, p. 761-7, nov. 2010.
- Maddalozzo, G.F. *et al.* Alcohol alters whole body composition, inhibits bone formation, and increases bone marrow adiposity in rats. *Osteoporosis International*, Heidelberg, v. 20, n. 9, p. 1529-38, sep. 2009.
- Melton, S.A. *et al.* Water exercise prevents femur density loss associated with ovariectomy in the retired breeder rat. *Journal of Strength and Conditioning Research*, Champaign, v. 18, n. 3, p. 508-12, aug. 2004.
- Mesquita, G.V. *et al.* Morbimortalidade em idosos por fratura proximal do fêmur. *Texto Contexto Enfermagem*, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 67-73, jan/mar. 2009.
- Nagasawa, S. *et al.* Effects of low-repetition jump exercise on osteogenic response in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 26, n. 3, p. 226-30, may. 2008.
- Notomi, T. *et al.* A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of bone in growing rats. *European Journal Applied Physiology*, Heidelberg, v. 83, n. 6, p. 469-74, dec. 2000.
- _____. Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in growing rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, Baltimore, v. 16, n. 1, p. 166-74, jan. 2001.
- Ocarino, N.M. *et al.* Treadmill training before and/or after ovariectomy is more effective in preventing osteopenia in adult female rats. *Science & Sports*, Paris, v. 24, p. 52-55, fev. 2007.
- Park, J.H. *et al.* Estrogen deficiency and low-calcium diet increased bone loss and urinary calcium excretion but did not alter arterial stiffness in young female rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 26, n. 3, p. 218-25, may. 2008.
- Saengsirisuwan, V. *et al.* Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement. *Metabolism*, Philadelphia, v. 58, n. 1, p. 38-47, jan. 2009.
- Shinoda, M., Latour, M.G., Lavoie, J.M. Effects of physical training on body composition and organ weights in ovariectomized and hyperestrogenic rats. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, London, v. 26, n. 3, p. 335-43, mar. 2002.
- Soot, T. *et al.* Relationship between leg bone mineral values and muscle strength in women with different physical activity. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 23, n. 5, p. 401-6, apr. 2005.
- Swift, J.M. *et al.* Cancellous bone formation response to simulated resistance training during disuse is blunted by concurrent alendronate treatment. *Journal of Bone and Mineral Research*, Baltimore, v. 26, n. 9, p. 2140-50, sep. 2011.
- Thorngren, K.G. *et al.* Epidemiology of femoral neck fractures. In: *Injury*, Bristol, v. 33, n. S-3, p. C1-7, jul. 2002.
- Tosteson, A.N. *et al.* Cost-effective osteoporosis treatment thresholds: the United States perspective. *Osteoporosis International*, London, v. 19, n. 4, p. 437-47, apr. 2008.
- Tromp, A.M. *et al.* Additional weight bearing during exercise and estrogen in the rat: the effect on bone mass, turnover, and structure. *Calcified Tissue International*, New York, v. 79, n. 6, p. 404-15, dec. 2006.
- Umamura, Y. *et al.* High-impact exercise frequency per week or day for osteogenic response in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, Baltimore, v. 26, n. 5, p. 456-60, aug. 2008.
- Vicentini, C.R. *et al.* Análise Biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira. *Veterinária e Zootecnia*, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 62-71, jun. 2007.
- Von Stengel, S. *et al.* Effects of whole body vibration on bone mineral density and falls: results of the randomized controlled ELVIS study with postmenopausal women. *Osteoporosis International*, Heidelberg, v. 22, n. 1, p. 317-25, mar. 2011.