



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba



**RAFAEL AUGUSTO DOS SANTOS SILVA**

**EFEITOS DE TRÊS DIFERENTES MÉTODOS DE  
TREINAMENTO FÍSICO SOBRE OS BIOMARCADORES DO  
ESTRESSE OXIDATIVO E QUALIDADE ÓSSEA DE RATAS  
NO PERÍODO DA PERIESTROPAUSA**

**ARAÇATUBA**

**2021**

**RAFAEL AUGUSTO DOS SANTOS SILVA**

**EFEITOS DE TRÊS DIFERENTES MÉTODOS DE  
TREINAMENTO FÍSICO SOBRE OS BIOMARCADORES DO  
ESTRESSE OXIDATIVO E QUALIDADE ÓSSEA DE RATAS  
NO PERÍODO DA PERIESTROPAUSA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção do título de “Mestre em Ciências Fisiológicas”.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita Cássia Menegati Dornelles

**ARAÇATUBA**

**2021**

Catálogo na Publicação (CIP)  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586e Silva, Rafael Augusto dos Santos.

Efeitos de três diferentes métodos de treinamento físico sobre os biomarcadores do estresse oxidativo e qualidade óssea de ratas no período da periostropausa / Rafael Augusto dos Santos Silva. - Araçatuba, 2021  
74 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba  
Orientadora: Profa. Rita Cássia Menegati Dornelles

1. Perimenopausa 2. Envelhecimento 3. Osteoporose  
4. Qualidade de vida I. T.

CDD 612

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Rafael Augusto dos Santos Silva**

**Efeitos de três diferentes métodos de treinamento físico sobre os biomarcadores do estresse oxidativo e qualidade óssea de ratas no período da periostropausa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção do título de “Mestre em Ciências Fisiológicas”.  
Área de concentração: Fisiologia.  
**Orientado:** Rafael Augusto dos Santos Silva **Orientadora:** Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Rita Cássia Menegati Dornelles

Aprovado em: 17/11/2021

### **Banca Examinadora**

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Rita Cássia Menegati Dornelles

Instituição: FOA/UNESP

Prof. Dr. Rodrigo Della Méa Plentz

Instituição: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Ivana Alice Teixeira Fonseca

Instituição: Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN)

Dedico primeiramente a Deus, toda a honra e toda glória a Ele, por me dar luz em meio a escuridão, por sempre colocar pessoas boas em meu caminho, por me dar a minha família e tudo que tenho, por estar sempre presente.

À minha mãe, Rita de Cássia dos Santos, por ser uma mulher forte, por sempre me acompanhar, sempre estar ao meu lado, por sempre me lembrar da importância dos estudos e da disciplina, por me ensinar a vida, a mostrar que mesmo na dificuldade é possível sorrir, por sempre lutar por mim, por sempre me dar o melhor, por me blindar e sempre estar disposta. Por ser meu pai, minha mãe, meu anjo protetor, não há palavras suficientes para agradecer-la, mas tudo que tenho e tudo que sou, é graças a ela.

À minha avó, Celsina Aparecida dos Santos, por ser uma mulher fantástica, forte e de caráter inigualável, por pensar na família acima de tudo, por nunca desistir, por me ensinar a humildade, por moldar meu caráter, minha pessoa, meu ser, por me ensinar todos os dias, por me aconselhar, me ajudar, por acreditar em mim antes de qualquer um, você é o motivo pelo qual luto.

À minha tia e madrinha, Patrícia dos Santos, por me ensinar por exemplo, pelo carinho, atenção, por estar sempre presente, por sempre estar disposta a ajudar, a contribuir, sempre trabalhando para todos, você foi e é um grande exemplo, de pessoa e de caráter.

As minhas irmãs (primas), Nicole Paloma dos Santos Fernandes e Thalia Gabrielle dos Santos Silva, que receberam a herança genética de serem fortes, passamos momentos difíceis, momentos que nem sempre podíamos ter o que queríamos, mas sempre tínhamos uns aos outros. Tenho certeza que vocês terão um futuro incrível.

Ao meu tio/padrinho, Marcelo Zacarias dos Santos, por muitas vezes fazer papel de pai, por me incentivar em vários momentos, por sempre me ajudar quando precisei.

Ao meu amor, Ana Carolina Polanowski Rossato, por sempre estar ao meu lado, por me ajudar nos piores momentos, por me dar conforto em meio as diversas crises, por me fazer uma pessoa melhor, por ser essa mulher fantástica.

À todos que passaram pelo meu caminho, por todos os professores, coordenadores, diretores e supervisores.

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba / Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOA / UNESP), ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas e a Sociedade Brasileira de Fisiologia (SBFis) pela oportunidade e privilégio de realizar o Mestrado.

Ao Diretor da FOA / UNESP, Prof<sup>a</sup>. Tit. Glauco Issamu Miyahara e ao Vice-Diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem pelo apoio.

Pró-Reitora de Pós-Graduação da UNESP (PROPG/UNESP), pelo apoio financeiro nas viagens para realização das disciplinas.

À Seção Técnica de Pós-Graduação, em especial a Cristiane Regina Lui Matos a pelo empenho em atender e auxiliar-me, desde a minha convocação.

À Seção Técnica de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (STAEPE) por toda prontidão e suporte.

Ao Laboratório Multiusuário de Biotecnologia e Bioengenharia (MUBIO) (Convênio FINEP 01.12.0530.00 - PROINFRA 01/2011) da FOA/UNESP pela utilização do aparelho de microtomografia.

Aos Professores do Departamento de Ciências Básicas da FOA-UNESP, pela ajuda, colaboração e aprendizado durante esta jornada.

Aos discentes e egressos do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, pela amizade e companheirismo.

Aos brasileiros, que que investiram por meio dos impostos, para que esse e outros milhares de projetos fossem executados.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos os funcionários da UNESP.

Muito obrigado a todos!

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

À Deus, por me conceder a vida e tudo que há nela, por me dar forças e por retirar o peso dos fardos, por estar presente sempre.

À minha família, por sempre me apoiar e impulsionar, independentemente do tamanho do desafio ou da distância a ser percorrida. Muito obrigado!

À Ana Carolina Polanowski Rossato, minha incansável companheira, minha amiga, minha parceira de bancada e de vida, por cada dia/noite de experimento, por cada momento feliz e triste, por cada acerto e erro, por me ajudar a fazer acontecer. Muito obrigado!

À minha orientadora, Profa. Dra. Rita Cássia Menegati Dornelles, por me oferecer ferramentas para a construção do caminho, por me orientar, muito além do campo acadêmico, por acreditar em mim desde a primeira conversa, por me ajudar nos momentos difíceis, por ajudar a materializar o meu sonho, por me ajudar a me tornar uma pessoa melhor. Muito obrigado!

Ao Luís Fernando Gadioli dos Santos, grande parceiro e amigo, que sempre me acolheu e me tranquilizou, mesmo antes de me conhecer, momentos antes da arguição do processo seletivo do mestrado veio me tranquilizar e me trazer palavras positivas. Muito obrigado!

À Angela Cristina de Nicola, pela parceria, pelas risadas, por cada conselho, por toda a capacidade e competência, por me ensinar, uma, duas, milhares de vezes, pelas coletas e balas, por sempre estar à disposição. Muito Obrigado!

À Fernanda Fernandes Breitenbach, que me recebeu com todo carinho e educação, que quem a conhece sabe que ela exala. Por me ajudar em todo o processo, por cada passo, por me fazer repensar a vida, por me ajudar sempre. Muito Obrigado!

À Melise Jacon Peres Ueno, por me ajudar, desde os primeiros seminários até a redação do artigo, por estar presente sempre, pela excelente didática, por tornar a prática fácil pela incrível transmissão da teoria. Muito Obrigado!

Ao meu parecerista, Prof. Dr. Antônio Hernandes Chaves Neto, por sempre estar disponível a ajudar, por me ensinar em diversos momentos, por cada parecer e relatório, por cada dia de experimento, pela disponibilidade, por cada conselho, ajuda e pela imensa bondade. Muito obrigado!

Aos meus sogros, Roberto Carlos Rossato e Kátia Cilene Polanowski Rossato, que me apoiaram e incentivaram em cada momento difícil, por sempre acreditar e incentivar, por me adotar como família, por comemorar a cada vitória. Muito obrigado!

Aos que sempre me incentivaram, Pedro Schwarz, Renato Ferreira Pessoa e Willian Afonso Ferreira, que por mais que eu não acreditasse, sempre me trouxeram uma palavra de positividade. Muito obrigado!

Ao professor Sérgio Tumelero, que em diversas ocasiões estava sempre disposto a contribuir, a ajudar, sem medir esforços. Muito obrigado!

A todos os integrantes do LaFEE, por toda a colaboração e parceria, em todos os momentos, por todos os dias gigantescos de coletas. Obrigado!



A mudança não virá se esperarmos por outra pessoa ou outros tempos. Nós somos aqueles por quem estávamos esperando. Nós somos a mudança que procuramos.

**Barack Obama**

Você não pode esperar construir um mundo melhor sem melhorar as pessoas. Cada um de nós deve trabalhar para o nosso próprio aprimoramento.

**Marie Curie**

SILVA, R. A. S. **Efeitos de três diferentes métodos de treinamento físico sobre os biomarcadores do estresse oxidativo e qualidade óssea de ratas no período da periostropausa**. 2021. 74f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

## RESUMO

O sedentarismo associado à diminuição da concentração plasmática de estrogênio aumenta o estresse oxidativo e promove alterações na homeostase óssea, culminando na osteopenia, que pode evoluir para osteoporose, aumentar a fragilidade óssea e o risco de fraturas. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade óssea de ratas Wistar naturalmente envelhecidas, no período da periostropausa submetidas a prática de três diferentes métodos de treinamento físico. Quarenta e oito ratas múltíparas da linhagem Wistar com idade inicial de 18 meses foram submetidas três vezes por semana durante 120 dias a treinamento aeróbio (TA; corrida em esteira), treinamento resistido (TR; subir escadas), treinamento concorrente (TC; subir escadas + corrida em esteira) ou permanecer sedentário. Após o período experimental, aos 21 meses, foi realizado a coleta do material biológico para análises. Os diferentes métodos de treinamento propiciaram redução de estresse oxidativo, aumento no desempenho físico, densidade mineral óssea, melhor microarquitetura óssea, resistência mecânica, locomoção e deambulação de ratas envelhecidas naturalmente durante o período da periostropausa. Além de confirmar que o TR é boa estratégia de intervenção, verificamos também que a realização de TA e TC desencadeou benefícios importantes para a estrutura óssea e qualidade da marcha, sendo alternativas de baixo custo financeiro e de fácil acesso à comunidade, que pode ser adotada como estratégia de prevenção de fraturas osteoporóticas.

**Palavras-chave:** Perimenopausa. Envelhecimento. Osteoporose. Qualidade de vida.

SILVA, R. A. S. **Effect of three different methods of physical training on oxidative stress biomarkers and bone quality of female rats during the periostropause period.** 2021. 74p. Thesis (Master's degree) - Faculty of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, 2021.

## **ABSTRACT**

A sedentary lifestyle associated with a decrease in the plasma concentration of estrogen increases oxidative stress and promotes changes in bone homeostasis, culminating in osteopenia, which can progress to osteoporosis, increase bone fragility and the risk of fractures. Thus, the present study aimed to evaluate the bone quality of naturally aged Wistar female rats, in the period of periostropause, submitted to the practice of three different methods of physical training. Forty-eight multiparous Wistar rats with an initial age of 18 months were submitted three times a week for 120 days to aerobic training (AT; treadmill running), resistance training (RT; stair climbing), concurrent training (CT; stair climbing + treadmill running) or remain sedentary. After the experimental period, at 21 months, the collection of biological material for analysis was performed. The different training methods provided reduced oxidative stress, increased physical performance, bone mineral density, better bone microarchitecture, mechanical strength, locomotion and walking of naturally aged rats during the period of periostropause. In addition to confirming that the RT is a good intervention strategy, we also verified that the performance of AT and CT triggered important benefits for bone structure and gait quality, being alternatives of low financial cost and easy access to the community, which can be adopted as a prevention strategy for osteoporotic fractures.

**Keywords:** Perimenopause. Aging. Osteoporosis. Quality of life.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Menopausa, estresse oxidativo e osteoporose	17
Figura 2 – Delineamento experimental	24
Figura 3 – Esteira ergométrica utilizada em treinamento	26
Figura 4 – Escada utilizada em treinamento	27
Figura 5 – Coleta de ciclo estral	38
Figura 6 – Teste de desempenho	39
Figura 7 – Locomoção em campo aberto	41
Figura 8 – Deambulação	42
Figura 9 – Biomarcadores do estresse oxidativo	45
Figura 10 – Análise qualitativa do osso trabecular	46
Figura 11 – Análise quantitativa do osso trabecular	47
Figura 12 – Análise qualitativa do osso cortical	48
Figura 13 – Análise quantitativa do osso cortical	49
Figura 14 – DEXA fêmur total e colo do fêmur	50
Figura 15 – Ensaio mecânico	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições gerais	38
Tabela 2 – Perfil Bioquímico plasmático	43

## LISTA DE SIGLAS

®	Marca registrada
°C	Graus célsius
3D	Análise tridimensional
aDMO	Área da densidade mineral óssea
BV / TV	Fração de volume ósseo
Ct Ar	Área do osso cortical
CAT	Catalase
CCVM	Capacidade de carregamento voluntário máximo
cm	Centímetro
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal
Conn.Dn	Densidade de conectividade
Ct.Po	Porcentagem de porosidade cortical
DEXA	Raios-x de dupla energia
DMO	Densidade mineral óssea
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAL	Fosfatase alcalina
FeSO <sup>4</sup>	Sulfato de ferro
Fig.	Figura
FRAP	Poder de redução do íon ferro
GLI	Glicemia
GSH	Glutathiona
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LDH	Desidrogenase Láctica
LED	Light emitting diode
Ltda.	Limitada
LUX	Unidade de medição do fluxo luminoso por unidade de área
m/min	Metros por minuto

MDA	Malonaldeído
MDF	Fibra de média densidade
min	Minuto
mm	Milímetros
mM	miliMol
mol/L	Mol por litro
J	Momento polar de inércia
$I_{\text{máx}}$	Momento polar máximo
$I_{\text{min}}$	Momento polar mínimo de inércia
N	Newton
N/m	Newton por metro
NaCl	Cloreto de sódio
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
nm	Nanômetro
NT	Não treinados
Tb.N	Número trabecular
$p$	Nível descritivo ou probabilidade de significância
$p/v$	Peso por volume
pH	Potencial hidrogênico
$p$ -NP	Pnitrofenil
OVX	Ovariectomia
ROI	Região de interesse
RPM	Repetição por minuto
SMI	Índice de modelo de estrutura
SOD	Superóxido dismutase
TA	Treinamento aeróbio
TAC	Capacidade antioxidante total
Tb.Th	Espessura trabecular
Tb. Sp	Separação trabecular

TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TC	Treinamento Concorrente
TIV	Teste incremental de velocidade
TR	Treinamento Resistido
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
U	Unidade de atividade enzimática
U/L	Unidade internacional por litro
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
VO <sub>2</sub> máx	Volume de oxigênio máximo
VOI	Volumes de amostra de interesse
ε	Representação de y é menor ou igual a um
μm	Micrômetros
μmol	Micro mol
μmol/L	Micro mol por litro



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	16
2 OBJETIVOS .....	22
2.1 Objetivo geral .....	22
2.2 Objetivos específicos .....	22
3 METODOLOGIA .....	23
3.1 Animais .....	23
3.2 Determinação dos grupos de trabalho e critério de inclusão e exclusão .....	24
3.3 Protocolo de treinamento físico .....	25
3.3.1 Treinamento Aeróbio .....	25
3.3.2 Treinamento Resistido .....	26
3.3.3 Treinamento Concorrente .....	28
3.4 Teste comportamental .....	28
3.4.1 Avaliação da Atividade Locomotora em Campo Aberto .....	28
3.4.2 Teste de Deambulação .....	29
3.5 Coleta do material biológico .....	29
3.6 Análise bioquímica .....	30
3.6.1 Fosfatase Ácida Resistente ao tartarato e Fosfatase Alcalina .....	30
3.6.2 Lactato .....	31
3.6.3 Lactato Desidrogenase (LDH) .....	31
3.6.4 Determinação da Atividade da Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT) .....	32
3.6.5 Concentração de Proteína Total (PT) .....	32

3.6.6 Parâmetros de Estresse Oxidativo .....	32
3.6.7 Capacidade Antioxidante Não Enzimática .....	33
3.6.8 Atividade Antioxidante Enzimática .....	34
3.6.9 Melatonina .....	34
3.7 Micro tomografia computadorizada (Micro-CT) .....	35
3.8 Absortometria de raios-x de dupla energia (DEXA) .....	36
3.9 Teste de compressão biomecânica .....	36
3.10 Análises Estatísticas .....	37
4 RESULTADOS .....	37
4.1 Parâmetros fisiológicos .....	37
4.2 Capacidade de carregamento voluntário máximo (CCVM) e teste incremental de velocidade (TIV) .....	38
4.3 Atividade locomotora de ratas senescentes .....	40
4.4 Análise de marcha .....	41
4.5 Perfil bioquímico .....	42
4.6 Marcadores plasmático do estresse oxidativo .....	43
4.7 Microarquitetura trabecular após treinamento físico .....	46
4.8 Osso cortical após treinamento físico .....	47
4.9 Densidade mineral óssea após treinamento físico .....	49
4.10 Força mecânica óssea após treinamento físico .....	50
5 DISCUSSÃO .....	51
6 CONCLUSÃO .....	59
REFERÊNCIAS .....	59
ANEXO .....	74

## 1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento é processo fisiológico complexo, multifatorial, natural e irreversível, acompanhado do declínio das habilidades físicas, funcionais e cognitivas, de ordem sistêmica. As projeções populacionais apontam para aumento significativo do número de idosos, que chegará a dois bilhões de habitantes em 2050, onde as mulheres estarão em maior número. No Brasil, dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), indicam que em 2060 a população idosa ultrapassará a quantidade de jovens de 0 a 15 anos, onde 67,2% da população estará fora da idade produtiva.

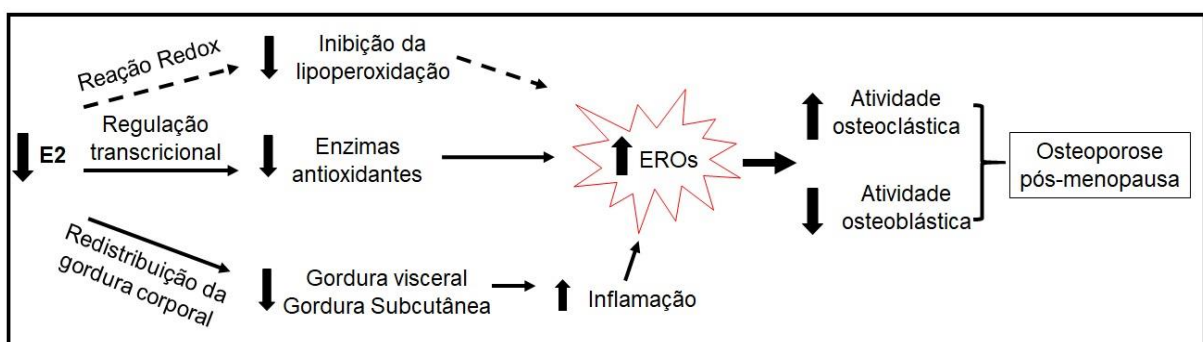
Os hormônios sexuais têm grande importância no processo maturação e desenvolvimento de diversos nossos órgãos e sistemas nas diferentes fases da vida. Alterações neuroendócrinas propiciam o envelhecimento, como a diminuição gradativa da atividade folicular ovariana resultando na cessação da ovulação no organismo feminino (HALL, 2007). O climatério é a fase do envelhecimento que marca a transição da fase reprodutiva para a fase não reprodutiva, que abrange a pré-menopausa (fase anterior do evento da menopausa), a perimenopausa (período imediatamente anterior à menopausa), a menopausa (evento marcado pela amenorreia por 12 meses consecutivos) e a pós-menopausa (período posterior ao evento da menopausa), onde essas diferentes fases apresentam alterações fisiológicas distintas (BLÜMEL et al., 2014; IMS, 2021; WHO, 1996).

A partir dos 29-30 anos de idade as mulheres experimentam alterações graduais nas concentrações hormonais, como o aumento do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) e redução das concentrações de estradiol. Essas alterações vão se potencializando e culminam com o cessar dos ciclos menstruais, como sinais e sintomas característicos da menopausa (ondas de

calor, sudorese, insônia, dor musculoesquelética, fadiga, formigamento) (BLÜMEL et al., 2014). A diminuição da densidade mineral óssea e a osteoporose, doença cardíaca coronária, aumento do estresse oxidativo, doença de Alzheimer, depressão, ansiedade, são ocorrências que poderão comprometer as atividades de vida diárias e qualidade de vida destas mulheres (TAECHAKRAICHANA et al., 2002; ZHANG et al., 2014). Essas alterações hormonais também podem ser observadas no modelo animal de ratas Wistar, o que faz deste um ótimo modelo para o estudo dos efeitos destas alterações (FERREIRA et al., 2015; NICOLA et al., 2016, 2021).

Assim como demonstrado por Bonaccorsi e colaboradores (2018), as disfunções endócrinas, alterações do tecido muscular e a instalação do estresse oxidativo formam ciclo negativo e altamente prejudicial (Fig. 1), podendo ser precursores e agentes intensificadores de doenças e síndromes, como a osteoporose e a sarcopenia, comumente observadas no período do envelhecimento (BONACCORSI et al., 2018; LANE; HILSABECK; REA, 2015).

**Figura 1 – Menopausa, estresse oxidativo e osteoporose**



**Fig. 1** – Relação de causa-efeito entre o declínio do estrogênio, estresse oxidativo e osteoporose pós-menopausa. Adaptado do artigo “Oxidative stress as a possible pathogenic cofactor of post-menopausal osteoporosis: Existing evidence in support of the axis oestrogen deficiency-redox imbalance-bone loss”, de Bonaccorsi *et al.*, (2018). Abreviações: E<sub>2</sub> (estrogênio); EROs (Espécie Reativa de Oxigênio).

As células estromais da medula óssea são progenitoras somáticas da linhagem mesenquimal, e essas células tem a capacidade de se diferenciar em osteoblastos e condrócitos. A disfunção mitocondrial, reduz a capacidade oxidativa, aumenta o

extravasamento de espécies reativas de oxigênio (EROs), reduz a produção de enzimas antioxidantes, desfavorecendo os osteoprogenitores, por outro lado, o aumento de EROs circulante favorece a diferenciação de células osteoclásticas, favorecendo a instalação da osteoporose (BIANCO et al., 2013; CALLAWAY; JIANG, 2015; HOLLENBERG et al., 2020).

A osteoporose é doença esquelética/metabólica multifatorial, em que a reabsorção óssea promovida pelos osteoclastos e não compensada pela formação óssea osteoblástica resulta na deterioração da microarquitetura óssea (FÖGER-SAMWALD et al., 2020; LI et al., 2020). Atualmente, a osteoporose afeta mais de 200 milhões de mulheres e causa mais de 8,9 milhões de fraturas anualmente, sendo a mais recorrente a fratura de quadril. Os dados estatísticos mundiais revelam óbito de 740.000 pessoas/ano em decorrência das fraturas ósseas, sendo 75% em mulheres (GULLBERG; JOHNELL; KANIS, 1997; JOHNELL; KANIS, 2004, 2006; KANIS, 2007).

As fraturas causam grande impacto na qualidade de vida desses indivíduos, como o aumento da dependência, aumento de reclusão em casas de repouso, maior inatividade, maior frequência e tempo de internações, relato frequente de dores, além das altas taxas de morbidade e mortalidade, sendo superior à 20% no primeiro ano após fratura (CENTER et al., 1999; REID, 2020). Além do sofrimento dos indivíduos e familiares afetados diretamente pela doença, a osteoporose promove gastos colossais do poder público, em 2018 os gastos de quatro países latino-americanos (Brasil, México, Colômbia e Argentina) foi estimado em 1,17 bilhão de dólares (AZIZIYEH et al., 2019). Em países desenvolvidos, como Estados Unidos e Reino Unido, esse número é ainda mais assustador, chegando em 63,23 bilhões de dólares (LEWIECKI et al., 2019). Conforme o exposto, é evidente a urgência de conhecimentos sobre

mecanismos para prevenção de osteoporose bem como implementação de políticas públicas para a prevenção de fraturas osteoporóticas.

A prática do exercício físico tem sido descrito como agente antagonico de diversas doenças, atuando de forma preventiva, corretiva e/ou retardando a velocidade de evolução de doenças irreversíveis, propiciando assim melhor saúde e qualidade de vida aos seus praticantes, no entanto, o exercício físico ainda é subutilizado como método preventivo (BENEDETTI et al., 2018; CHEKROUD et al., 2018; CHODZKO-ZAJKO et al., 2009; MAZZEO et al., 1998; NELSON et al., 2007; PEREIRA et al., 2020; PINHEIRO et al., 2020; WATSON et al., 2018). Em contraponto, o sedentarismo favorece a redução da qualidade óssea, além de aumentar o risco de quedas e fraturas em adultos mais velhos (MCMICHAN et al., 2021; RUNGE et al., 2004; STATTIN et al., 2021).

Entre as modalidades de exercício físico destacamos o treinamento de força, o qual tem sido empregado como agente profilático de diversas doenças e patologias, como a osteoporose, sarcopenia, câncer, depressão, hipertensão e diabetes (HURLEY; HANSON; SHEAFF, 2011; KRASCHNEWSKI et al., 2016). É o tipo de exercício que exige contração, que pode ser isométrica (sem movimento articular) ou isotônica (com movimento articular), contra resistência (pesos livres, aparelhos, elásticos, molas ou o peso do próprio corpo) e é caracterizado por menor volume e maior intensidade (FLECK; KRAEMER, 2017).

É consenso na literatura que exercícios com sobrecarga, como o treinamento resistido (TR), é capaz de promover estímulos osteogênicos devido ao aumento do estresse mecânico. Esse efeito osteogênico parece ser maior em indivíduos que praticam exercícios de sobrecarga que envolva grande força muscular, do que aqueles com menor ou baixa sobrecarga, como a natação, uma vez que a DMO é

menor nestes indivíduos (MENKES et al., 1993). Os estímulos osteogênicos decorrentes do aumento do estresse mecânico reduzem a perda de massa, proporcionam osteoblastogênese (BOSKEY; COLEMAN, 2010) e atuam na manutenção da DMO (MENKES et al., 1993). Stengel e colaboradores (2005) demonstraram que mulheres na pós-menopausa que realizaram exercícios físicos que envolvem a geração de grande força muscular, apresentam melhor DMO do que as mulheres que não realizaram exercício físico ou realizaram exercícios físicos com menor impacto.

Estudo prévio de nosso grupo, realizado com ratas na periostropausa inicial (14 a 18 meses), em que a concentração de estrógeno foi abruptamente diminuída pela ovariectomia (OVX), demonstrou que o tratamento com Raloxifeno (1mg/Kg/dia) ou TR atuaram na prevenção de perda de massa óssea e na modulação do ciclo de remodelamento ósseo; entretanto, a combinação de TR associado ao uso de Raloxifeno não desencadeou benefícios aditivos (STRINGHETTA-GARCIA et al., 2016). Outros estudos realizados em nosso laboratório, com ratas intactas na periostropausa evidenciaram os efeitos benéficos do TR em estruturas ósseas destes animais (PERES-UENO et al., 2020; SINGULANI et al., 2017; STRINGHETTA-GARCIA et al., 2017).

Outra intervenção amplamente utilizada é o treinamento aeróbico (TA), cuja a prática de no mínimo 150 minutos semanais de atividade em intensidade moderada ou 60-70 minutos de atividades intensas durante a semana é recomendado pela organização mundial da saúde (OMS) e colégio americano de medicina esportiva (ACSM). A realização indicada destes exercícios pode reduzir o risco de doença crônica, mortalidade prematura, limitações funcionais e deficiências, além de auxiliar no tratamento de doenças como a fibromialgia, depressão diabetes e doença de

Alzheimer (CHODZKO-ZAJKO et al., 2009; HÄUSER et al., 2010; MORRIS et al., 2017; NELSON et al., 2007; SMITH et al., 2010; WHO, 2010).

O exercício aeróbio refere-se a toda atividade que requer oxigênio por período prolongado, utilizando-se de vários grupamentos musculares, que agem de maneira rítmica durante todo o período exigido, como caminhadas corridas, natação, dança, entre outros (COOPER, 1982; NELSON et al., 2007). Zhang e colaboradores (2014) avaliaram a qualidade de vida relacionada a saúde de 154 mulheres com idade entre 40 e 55 anos, e concluíram que o exercício aeróbio pode reduzir substancialmente a maioria dos sintomas da perimenopausa. Revisão realizada para análise da eficácia de exercício físico com ratas em esteira, mostrou que esta modalidade de exercício propicia aumento de massa óssea em ratas jovens e adultas. Os autores verificaram também ação de prevenção para perda óssea após a ovariectomia e aumento de massa e resistência óssea em ratas osteopênicas, principalmente em ossos longos apendiculares. Entretanto, quando o exercício foi descontinuado, ocorreu perda dos benefícios ósseos (IWAMOTO; TAKEDA; SATO, 2005).

O treinamento concorrente (TC) é outra metodologia onde são empregados dois tipos distintos de atividades no mesmo programa, sendo mais comumente utilizados o treinamento de força e a corrida em esteira. Este tipo de treinamento tem obtido resultados benéficos à saúde, como a redução da resistência à insulina, melhor controle da diabetes tipo 2, melhora da limitação funcional, melhora na velocidade de marcha e força de membros inferiores em idosos, no entanto, ainda são vagos os dados sobre os efeitos sobre o metabolismo ósseo (DAVIDSON et al., 2009; SIGAL et al., 2007; SILVA et al., 2012; TIMMONS et al., 2018). Em estudo realizado com idosos obesos, utilizando o treinamento concorrente, Armamento-Villareal e colaboradores (2020) observaram que o treinamento de força foi eficaz para o



aumento da DMO destes indivíduos, apesar de não ter diferenças significantes em relação aos marcadores do *turnover* ósseo (ARMAMENTO-VILLAREAL et al., 2020).

Existem incontáveis metodologias de treinamentos e talvez por isso, ainda não temos consenso a respeito da melhor metodologia a ser aplicada como método profilático à osteoporose (ARMAMENTO-VILLAREAL et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; WATSON et al., 2018), porém diante da proporção epidêmica que esta doença atingiu, faz-se necessário encontrar estratégias eficientes e de fácil acesso a grande massa para a prevenção de fraturas osteoporóticas e suas mazelas associadas. Nossa hipótese é que o TC promove efeitos positivos sobre a qualidade óssea, de forma superior aos treinamentos isolados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o estresse oxidativo, qualidade de marcha e qualidade óssea de ratas Wistar no período da periostropausa, submetidas à prática de três diferentes métodos de treinamento físico.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analisar o estresse oxidativo e defesa antioxidante dos diferentes tipos de treinamento;
- Analisar as respostas da qualidade óssea, frente aos diferentes métodos de treino, através dos testes de densitometria óssea, microtomografia óssea e ensaio mecânico.
- Analisar as respostas comportamentais como locomoção em campo aberto e qualidade de marcha;

- Verificar efeito do exercício físico no período biológico nas variáveis analisadas anteriormente;
- Verificar, neste estudo, se algum dos métodos de treinamento físico apresenta resultado superior ao outro.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Animais

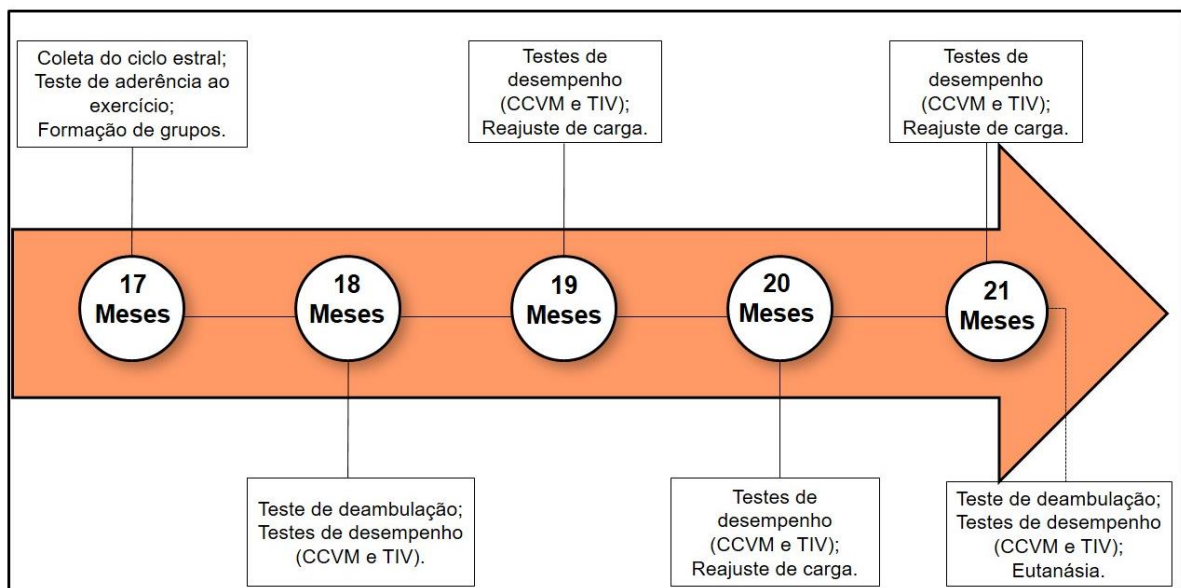
Todos os procedimentos foram aprovados (Protocolo 00826-2018) pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araçatuba, SP, Brasil). Todos os animais foram criados e transportados nas condições especificadas na Lei brasileira 11.794/2008 de Bem-Estar Animal e estão de acordo com o guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividade de ensino ou pesquisa científica do conselho nacional de controle de experimentação animal (CONCEA).

Quarenta e oito ratas multíparas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) foram mantidas, desde os 12 meses, no biotério do departamento de ciências básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas (4 animais por caixa) em sala com controle de temperatura ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), umidade ( $55\% \pm 10\%$ ) e ciclo claro/escuro invertido de 12:12 horas, com início da fase escura às 07h00. Os animais tiveram livre acesso a água e ração (Presence® Ratos e Camundongos, Paulínia, SP, Brasil). As características gerais de saúde dos animais foram monitoradas diariamente e com supervisão de médico veterinário. Com exceção da coleta do ciclo estral, todos os procedimentos foram realizados durante a fase escura do animal, sob luz de LED (*light-emitting diode*) de baixa intensidade (menor do que 1 LUX) vermelha.

### 3.2 Determinação dos grupos de trabalho e critério de inclusão e exclusão

O esfregaço vaginal de ratas com 17 meses foi analisado a fresco, ao microscópio óptico durante 2 semanas, para verificação das fases do ciclo estral (LONG; EVANS, 1922) e confirmação do período de irregularidade, com período longo em diestro (FERREIRA et al., 2015; NICOLA et al., 2016). Após a confirmação da irregularidade do ciclo estral, foi verificada a aderência das ratas ao treinamento físico, afim de minimizar diferenças entre os níveis de estresse diante ao exercício e inclusão, em todos os grupos experimentais, somente dos animais que realizaram o exercício físico durante o período de familiarização (Fig. 2).

**Figura 2 – Delineamento experimental**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 2 – Delineamento experimental resumido.** Abreviações: CCVM (Teste de Capacidade de Carregamento Voluntário Máximo); TIV (Teste Incremental de Velocidade).

Foram incluídos nos grupos experimentais os animais que escalaram a escada (equipamento utilizado para a realização do treinamento resistido) e realizaram corrida em esteira (equipamento utilizado para a realização do treinamento aeróbio) com classificação adequada, sendo animais considerados aderentes ao exercício físico,

durante o período de familiarização. Os animais não aderentes ao exercício físico foram excluídos do estudo. Ao fim do processo de inclusão e exclusão, as ratas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos:

Ratas aderentes e não submetidas ao treinamento físico (NT), n=12

Treinamento Aeróbio (TA), n=12

Treinamento Resistido (TR), n=12

Treinamento Concorrente (TC), n=12

### **3.3 Protocolo de treinamento físico**

#### **3.3.1 Treinamento Aeróbio**

A familiarização na esteira das ratas do treinamento aeróbio (TA) (Fig. 3) foi realizada por três dias consecutivos, por 10 minutos/dia em velocidade de 6 metros por minuto (m/min) (NOKIA *et al.*, 2016). Após a familiarização, as ratas tiveram 24 horas sem atividades e posteriormente realizaram o teste incremental de velocidade (TIV) proposto por Picoli e colaboradores (PICOLI *et al.*, 2018) a fim de determinar a velocidade de trabalho de cada animal estando associado com o VO<sub>2</sub> máximo. O teste consistiu em período inicial de aquecimento com duração de 5 minutos à velocidade de 6 m/min. Posteriormente, a velocidade foi aumentada para 11,4 m/min seguido por acréscimo de 5,4 m/min a cada 3 minutos de corrida até atingir a exaustão, caracterizada pela incapacidade do animal continuar por mais de 10 segundos, chegando assim ao VO<sub>2</sub> pico (PICOLI *et al.*, 2018). A inclinação foi mantida em 0°. O programa de treinamento foi realizado em sessões de 40 minutos ininterrupto, à 70% do VO<sub>2</sub> pico obtido no teste incremental, caracterizando a utilização predominante da via aeróbia (DE MÉLO MONTENEGRO *et al.*, 2012) por três vezes na semana durante

o período de 120 dias. A cada quatro semanas de treino foi realizado novo teste incremental de velocidade máxima, a fim de adequar a intensidade do exercício.

Para o protocolo do exercício aeróbio, foi adotada escala em que o desempenho do animal na esteira é pontuado com score de 1 a 5 (DISHMAN et al., 1988; HENRIQUE et al., 2018):

1= o animal se recusa a correr;

2= corrida sem constância (corre e para ou corre em direção errada);

3= corrida irregular;

4= corrida boa (ocasionalmente corre na parte de trás da esteira);

5= corrida excelente (corre permanentemente na parte da frente da esteira).

### Figura 3 – Esteira ergométrica utilizada em treinamento



**Fig. 3** – Esteira composta por quatro baias utilizadas durante a realização do treinamento aeróbio e do treinamento concorrente.

### 3.3.2 Treinamento Resistido

Os animais do grupo treinamento resistido (TR) realizaram a escalada em escada (Fig. 4) [1.13 x 0.18 m, 2 cm, com angulação de 80°, área de descanso no topo [(20 x 20 x 20 cm de diâmetro)] (HORNBERGER JR.; FARRAR, 2004; SINGULANI *et al.*, 2017; STRINGHETTA-GARCIA *et al.*, 2016), três vezes por semana durante 120 dias. Na primeira semana do 18º mês, os animais passaram pela habituação à escada. No dia 1 da segunda semana a capacidade de carregamento voluntário máximo (CCVM) de cada animal foi avaliada com uso de

tubos e esferas de aços acoplados à cauda do animal. Para avaliar a CCVM, o peso inicial da carga foi correspondente a 75% do peso corporal do animal, e a cada nova subida (a cada subida o animal tinha 3 minutos de descanso) eram acrescentadas 30 gramas de peso. Este procedimento foi realizado até que o animal não completasse uma repetição completa e assim, o peso obtido na subida completa anterior era considerado a CCVM, e base para cálculo da força máxima utilizada durante o período de treino. Após 48 horas da realização do teste de CCMV, os animais realizavam a escalada na escada.

Durante 120 dias, os animais do grupo TR realizaram três vezes por semana a escalada na escada, em dias alternados. Cada sessão de treino consistia em 10 séries (escaladas completas na escada) e 3 minutos de intervalo entre as séries. Durante a primeira semana foi utilizada como carga de treino 60% da carga obtida na CCVM, aumentada para 70% na segunda semana e 80% na terceira semana. A partir da quarta semana de treino até o final do período experimental foi utilizada a carga de treino de 80% da CCVM, sendo que esta era reavaliada mensalmente para readequação da CCVM.

**Figura 4 – Escada utilizada em treinamento**



**Fig. 4 – Modelo de escada utilizado durante a execução de treinamento de força e treinamento concorrente.**

### **3.3.3 Treinamento Concorrente**

A familiarização foi realizada durante três dias consecutivos, na semana anterior ao início do programa. Esta foi composta pela escalada na escada sem carga e corrida na esteira ergométrica por 10 minutos com velocidade de 6 m/min. Após o passar destes três dias foi concedido um dia de descanso e ao término deste período, foi aplicado o teste de CCVM e após 24 horas foi realizado o TIV, seguindo os mesmos protocolos descritos anteriormente. O programa foi composto pela execução do treinamento resistido e treinamento aeróbio, sendo executados nesta respectiva ordem, realizados três vezes na semana (terça, quinta e sábado) durante 120 dias. O treinamento resistido foi realizado por escalada na escada em 5 séries (escaladas completas na escada) inicialmente à 60% da CCVM, sendo elevado 10% a cada semana até alcançarmos a carga de trabalho definitiva de 80% da CCVM. Imediatamente após a fase anaeróbia as ratas foram colocadas na esteira ergométrica dando início a fase aeróbia, sendo esta composta por 20 minutos (ininterruptos) de corrida à 70% VO<sub>2</sub> pico. A partir da quarta semana foram realizados novos testes de CCVM e de velocidade na esteira, sendo repetidos a cada quatro semanas.

## **3.4 Teste comportamental**

O conjunto de teste para análise comportamental foi realizado antes do início de cada protocolo de treinamento (18 meses) e ao final dos treinamentos (21 meses), todos os testes foram realizados na fase escura do animal, com ambiente iluminado por luz vermelha de baixa intensidade (menor que 1 LUX).

### **3.4.1 Avaliação da Atividade Locomotora em Campo Aberto**

O aparelho foi feito de MDF (fibra de média densidade) com fórmica branca cercada por paredes brancas (40 cm de altura). A base de 100 cm x 100 cm foi dividida

por linhas pretas em 25 quadrados de 20 cm × 20 cm, em ambiente iluminado por LED vermelho de baixa intensidade. Cada rata foi colocada no centro do aparato e os seguintes comportamentos foram registrados por 5 min: locomoção periférica (adjacente às paredes), locomoção central (além das paredes) e tempo gasto no centro do aparelho, a fim de verificar o grau de locomoção ou comportamento sedentário do animal. O aparelho foi limpo com solução de etanol a 5% após cada teste. Uma câmera (Logitech® C270) posicionada acima do aparelho registrou os testes e os comportamentos quantificados por observador treinado. Os métodos de limpeza e registro foram idênticos para todos os testes. Foi realizada uma sessão de habituação de 5 minutos e uma sessão principal de 5 minutos com intervalo entre elas de 1 hora (MAZUR *et al.*, 2017; PRUT; BELZUNG, 2003).

### **3.4.2 Teste de Deambulação**

O teste de deambulação possibilita avaliação funcional da marcha de roedores e indicativo do estado da função muscular esquelética (KENNEL *et al.*, 1996). Neste teste, as patas traseiras dos animais foram colocadas em contato com tinta (guache) atóxica da cor preta e em seguida, os animais foram posicionados em caixa retangular de madeira (45 cm de comprimento, 8 cm de largura e 20 cm de altura; sem teto e forrada com papel branco) para caminharem por três tentativas. Antes de terem as patas pintadas, os animais caminharam pela caixa três vezes (ambientação). Em seguida, o comprimento da passada foi mensurado. Os dados foram obtidos previamente (18 meses de idade) e ao fim do período experimental (21 meses de idade).

### **3.5 Coleta do material biológico**



Após os 120 dias de treinamento e dos testes comportamentais finais, os animais foram decapitados e a coleta sanguínea foi realizada para dosagem plasmática de marcadores de estresse oxidativo e metabólicos. Após coleta sanguínea, o útero, ovários e tíbias foram retirados e os pesos registrados; os fêmures foram coletados e armazenados em solução de NaCl 0,9% em freezer -20 °C. O peso corporal dos animais foi registrado mensalmente durante o período de treinamento.

### **3.6 Análise bioquímica**

A coleta do sangue foi realizada por decapitação após 48 horas da última sessão de treinamento. O sangue foi centrifugado (3000 rpm; 15 min; 4 °C) e o plasma foi fracionado e armazenado em freezer a -80 ° C para posterior análise bioquímica.

#### **3.6.1 Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato e Fosfatase Alcalina**

A atividade enzimática da fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), pelo método colorimétrico adaptado (GRANJEIRO *et al.*, 1997; JANCKILA *et al.*, 2005), foi fornecida a 37 °C em acetato de sódio (pH 5,8), contendo 5 mmol/L do substrato *p*-nitrofenilfosfato na presença de 50 mmol/L tartarato de sódio e 1 mmol/L *p*-hidroximercuribenzoato, inibidor de fosfatases ácidas de baixo peso molecular (LAIDLER; TAGA; VAN ETTEN, 1982; LAU *et al.*, 1987), (*p*-HMB, Sigma, St. Louis, EUA). A formação de *p*nitrofenil (*p*-NP) foi fornecida colorimetricamente pela leitura da absorvância a 405 nm, usando o coeficiente de extinção molar de 18.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. A atividade residual correspondente a TRAP foi expressa em Unidades Internacionais (U/L), onde uma unidade corresponde a quantidade necessária de enzima que catalisa a transformação de 1 μmol de substrato por minuto, por litro de plasma. A análise bioquímica da FAL (Fosfatase alcalina) plasmática também foi realizado pelo método colorimétrico adaptado (GRANJEIRO *et al.*, 1997). A atividade

enzimática foi fornecida à 37 °C em tampão glicina (pH 9,4), contendo 2,0 mmol/L do substrato *p*-NPP e 2,5 mmol/L de cloreto de magnésio Sigma, St. Louis, EUA). A formação de *p*-NP foi fornecida colorimetricamente pela leitura da absorbância a 405 nm, usando o coeficiente de extinção molar de 18.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. A atividade enzimática da FAL foi expressa em U/L.

### 3.6.2 Lactato

A Desidrogenase Láctica (LDH) catalisa a oxidação do L-Lactato a Piruvato, com consequente redução do NAD<sup>+</sup> a NADH. As análises foram realizadas com o kit comercial (K084-2-lactato-50 mL), adquiridos da Quibasa Química Básica Ltda (Santa Branca – Belo Horizonte/MG, Brasil). A concentração de L-Lactato foi medida pelo aumento da absorbância a 340 nm, a partir da formação de NADH para a determinação da concentração plasmática de lactato (DOS SANTOS *et al.*, 2018). Todos os procedimentos seguiram as orientações recomendadas pelo fabricante.



### 3.6.3 Lactato Desidrogenase (LDH)

As análises foram realizadas com kit comercial (k014-2 desidrogenase láctica Idh uv - 50 mL), adquiridos da Quibasa Química Básica Ltda (Santa Branca – Belo Horizonte/MG, Brasil). A atividade da LDH no sobrenadante foi determinada enzimaticamente, catalisada na interconversão de piruvato e lactato na presença de NADH. A redução na absorbância a 340 nm, resultante da oxidação do NADH, foi proporcional à atividade do LDH na amostra (DOS SANTOS *et al.*, 2018; HUIJGEN *et al.*, 1997). Todos os procedimentos seguiram as orientações recomendadas pelo fabricante.

### **3.6.4 Determinação da Atividade da Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT)**

Os kits comerciais, transaminase ALT cinética (k 049) e transaminase AST cinética (k 048) foram adquiridos da Bioclin®, Quibasa Química Básica Ltda (Santa Branca – Belo Horizonte/MG, Brasil), cujas metodologias foram baseadas nos protocolos adaptados de Karmen (1955) e Henry *et al.*, (1960). A ALT catalisa especificamente a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato com formação de glutamato e piruvato. Este último é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase, enquanto a coenzima NADH é oxidada à NAD<sup>+</sup>. A redução da absorvância em 340 nm, consequente da oxidação da coenzima NADH, é monitorada colorimetricamente, sendo diretamente proporcional à atividade da ALT no plasma. A AST catalisa especificamente a transferência do grupo amina do ácido aspártico para o cetoglutarato com formação de glutamato e oxaloacetato. O oxaloacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase, enquanto a coenzima NADH é oxidada à NAD. A redução da absorvância em 340 nm, consequente da oxidação da coenzima NADH, é monitorada colorimetricamente, sendo diretamente proporcional à atividade da AST no plasma. As atividades da ALT e AST foram expressas em U/L (DOS SANTOS *et al.*, 2018; HENRY *et al.*, 1960; KARMEN; WRÓBLEWSKI; LADUE, 1955).

### **3.6.5 Concentração de Proteína Total (PT)**

A concentração de PT foi determinada usando o método de Hartree-Lowry (HARTREE, 1972), usando albumina de soro bovino como padrão. As concentrações plasmáticas de PT foram utilizadas para normalização das atividades das enzimas.

### **3.6.6 Parâmetros de Estresse Oxidativo**

A peroxidação foi realizada pela dosagem de TBARS (BUEGE; AUST, 1978). O sobrenadante foi agitado suavemente com a mistura de reação contendo 15% (p/v) ácido tricloroacético, ácido tiobarbitúrico 0,67% (p/v) e HCl 0,25 mol / L. As amostras foram incubadas em banho-maria a 95 ° C por 45 minutos e depois resfriadas em gelo. Finalmente, as amostras foram centrifugadas a 1000 x rpm durante 10 minutos. Após a centrifugação, o TBARS no sobrenadante foi determinado a 532 nm em leitor de microplaca (Biotek Powerwave 340, EUA). A quantidade de aldeídos formados foi calculado usando seu coeficiente de extinção ( $\epsilon_{532} = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e expresso como  $\mu\text{mol} / \text{L}$ .

### **3.6.7 Capacidade Antioxidante Não Enzimática**

A capacidade antioxidante total (TAC) foi determinada espectrofotometricamente usando o ensaio FRAP, conforme descrito anteriormente por Benzie e Strain (1996) com base em a redução de  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , que é quelatado por 2,4,6-tri (2-piridil) -s-triazina (TPTZ) para formam o complexo  $\text{Fe}^{2+}$  -TPTZ com absorbância máxima a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Os resultados foram calculados usando curva padrão construída com diferentes concentrações de  $\text{FeSO}_4$ . As concentrações plasmáticas de GSH (glutathiona) foram medidas de acordo com o método de Beutler *et al.*, (1963), usando ácido clorídrico para precipitação de proteínas e ácido 5'-5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico para desenvolvimento de cor (BEUTLER; DURON; KELLY, 1963). As concentrações de AU (ácido úrico) foram medidas com kit comercial (Labtest, Brasil). A uricase foi usada no ensaio para transformar o AU em alantoína e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Na presença de peroxidase, o peróxido de hidrogênio reage com 4-aminoantipirina e 3,5-dicloro-2-hidroxi-benzenossulfonato de sódio, formando o cromógeno antipirilquinonimina (TRIVEDI *et al.*,1978).

### 3.6.8 Atividade Antioxidante Enzimática

A atividade de SOD (superóxido dismutase) foi determinada espectrofotometricamente (420 nm) medindo a inibição da taxa de autooxidação de pirogalol em 50 mmol / L de tampão Tris-HCl (pH 8,2), contendo 1 mmol / L de DTPA. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a taxa de autooxidação do pirogalol em 50% (MARKLUND; MARKLUND, 1974). A atividade da CAT (catalase) foi determinada espectrofotometricamente (240 nm) medindo a taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio em 50 mmol/L de tampão de fosfato de potássio (pH 7,0) (AEBI, 1984). As unidades de atividade enzimática foram determinadas usando o coeficiente de extinção molar de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\epsilon_{240} = 0,0394 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Uma unidade de atividade CAT foi definida como a quantidade de enzima necessária para decompor 1 mmol de peróxido de hidrogênio por 1 minuto. Azida de sódio foi usada para bloquear a atividade da catalase. A atividade da GPx (glutathione peroxidase) foi avaliada em ensaio acoplado com a oxidação catalisada por glutathione reductase (GR) de NADPH usando terc-butil hidroperóxido como substrato (WENDEL, 1981). A atividade da enzima foi determinada espectrofotometricamente monitorando o desaparecimento de NADPH a 340 nm em meio contendo tampão fosfato de sódio 50 mmol/L (pH 7,5), EDTA 1 mmol/L, NADPH 0,1 mmol/L, azida de sódio 0,4 mmol/L, 0,1 U/mL GR, 1 mmol/L GSH, 0,5 mmol/L terc-butil hidroperóxido e homogenatos de tecido. Um U da atividade da GPx foi definido como 1 mmol de NADPH consumido por minuto, usando o coeficiente de extinção molar NADPH ( $\epsilon_{340} = 6,2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 3.6.9 Melatonina

Para as medições de melatonina no plasma, foi utilizado kit Ensaio Imunoabsorvente Enzimático (ELISA) comercial do fabricante LSBio® (MyBioSource). A placa foi pré-revestida com anticorpo melatonina geral. A melatonina presente na

amostra é adicionada e se liga aos anticorpos que revestem os poços, e então o anticorpo melatonina biotinilado é adicionado e se liga à melatonina na amostra. Em seguida, estreptavidina-HRP é adicionada e se liga ao anticorpo de melatonina biotinilada. Após a incubação, a estreptavidina-HRP não ligada é eliminada durante uma etapa de lavagem. A solução de substrato é então adicionada e a cor se desenvolve em proporção à quantidade de melatonina geral. A reação é terminada pela adição de solução de parada ácida e a absorbância é medida a 450 nm (MYBIOSOURCE, 2015).

### **3.7 Microtomografia computadorizada (Micro-CT)**

Os fêmures foram escaneados por micro-CT Skyscan 1272 (Skyscan, Aartselaar, Bélgica) e conduzidos com filtro de alumínio de 0,5 mm, rotação de 180 °, degrau de 0,5 °, 70 kV e configuração de 142 mA. O fêmur total foi escaneado com resolução de pixel de 8 µm, resultando em 600 fatias de µCT por espécime. As imagens foram reconstruídas usando o software NRecon (SkyScan, Leuven, Bélgica) e o software CTAn (Bruker-microCT), versão 2.2.1, foi utilizado para a determinação do limiar ideal dos histogramas de imagem e foi definido para delimitar o osso com mineralização baixa (1-120) do tecido altamente mineralizado com osso cortical (121-255) para análise tridimensional (3D). O mesmo limite foi usado em todos os volumes de amostra de interesse (VOI). Os parâmetros analisados para o osso do colo do fêmur: Parâmetros corticais: área do osso cortical (Ct Ar; mm<sup>2</sup>), porcentagem de porosidade cortical (Ct.Po; %), momento polar de inércia (J, mm<sup>4</sup>) e momento polar máximo e mínimo de inércia (*I* max e *I* min; mm<sup>4</sup>). Parâmetros trabeculares: fração de volume ósseo (BV/TV;%), Índice de modelo de estrutura (SMI), densidade de conectividade (Conn.Dn, 1/mm<sup>3</sup>), número trabecular (Tb.N; 1/mm), separação

trabecular (Tb. Sp; mm), espessura trabecular (Tb.Th) (FERNANDES *et al.*, 2020; STRINGHETTA-GARCIA *et al.*, 2016).

### **3.8 Absortometria de raios-x de dupla energia (DEXA)**

Para avaliar se os exercícios físicos (TR, TA e TC) realizados poderiam influenciar na resistência óssea, avaliamos a densidade mineral óssea da área (aDMO) de fêmures por absortometria de raios-X de dupla energia (Lunar DPX Alpha, WI, EUA), com software para mensuração da DMO em pequenos animais. O equipamento foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante. Desta forma, os fêmures descongelados foram posicionados no plano frontal e vista anteroposterior na mesa do scanner, orientados na mesma direção, e totalmente digitalizados em recipiente com 2 cm de água. A região de interesse (ROI) no colo do fêmur foi delimitada com área quadrada de 0,72 mm, e todas as análises foram realizadas pelo mesmo pesquisador (FERNANDES *et al.*, 2020; PERES-UENO *et al.*, 2020).

### **3.9 Teste biomecânico**

A avaliação das propriedades biomecânicas do fêmur direito foi realizada por meio de testes de compressão do colo do fêmur e flexão de três pontos na diáfise do fêmur (Universal Testing Machine; DL3000, EMIC, SP, Brasil) (FERNANDES *et al.*, 2020; TURNER; BURR, 1993). Os ossos foram colocados em aparato metálico e fixados verticalmente (eixo longo) e força de compressão aplicada na cabeça do fêmur. Esse posicionamento permite que a força gerada seja paralela ao longo eixo do fêmur, o que resulta em movimento de flexão da cabeça e do colo do fêmur. Desta forma, a carga máxima e a rigidez puderam ser analisadas. Foram realizados testes biomecânicos com distância de 20 mm entre a superfície de apoio e velocidade de aplicação de carga (força) de 0,25 mm/min. A análise biomecânica avaliou a curva

deslocamento x força, resistência óssea, carga máxima (N) aceita pelo tecido ósseo e rigidez ( $\times 10^3$  N/m); a distância entre a superfície de apoio era de 20 mm e célula de carga de 2.000 N foi usada. Os valores foram registrados no próprio sistema de computador do fabricante (Instron), que fornece diretamente a força máxima admitida pelo fêmur.

### **3.10 Análises Estatísticas**

A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram analisadas com o teste Shapiro-Wilk. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e considerados estatisticamente significantes quando 5% ( $p < 0,05$ ), representados por (\*) quando diferença entre grupos e (<sup>abcd</sup>) quando comparados intragrupo. Os dados foram submetidos ao Teste de análise de Variância (ANOVA) ONE-WAY seguida por pós-teste de Tukey. Para análise intragrupo (18-21 meses) os dados foram submetidos a teste *t* pareado, com significância representada pelo símbolo (\*).

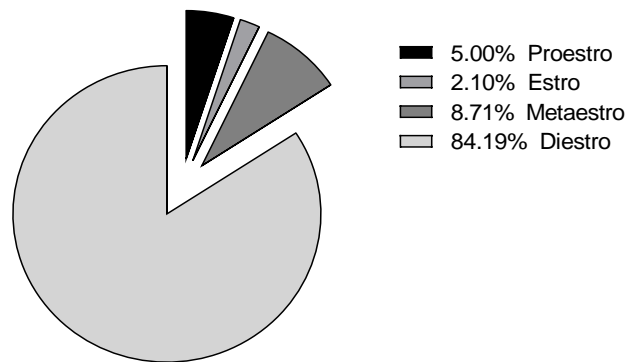
## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Parâmetros fisiológicos**

O período de análise do ciclo estral de ratas Wistar com 17 meses de idade evidenciou irregularidade nas fases do ciclo, com citologia vaginal leucocitária caracterizando a ocorrência de diestro persistente. O monitoramento do ciclo estral das ratas mostrou que os animais permaneceram em diestro persistente por 84,19% do período equivalente a três ciclos consecutivos, caracterizando periestropausa (Fig. 5). Durante a intervenção dos três métodos de treinamento físico, não houve diferença estatística significativa no peso corporal ou tecidual (útero e ovário) entre os grupos experimentais, assim como não houve alterações na perimetria tibial (Tabela 1).



**Figura 5 – Coleta de ciclo estral**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 5 –** Incidência das fases do ciclo estral de ratas Wistar com 17 meses de idade após duas semanas de coletas e análises do esfregaço vaginal.

**Tabela.1: Condições gerais:** Peso corporal pré-intervenção (18 meses) e pós-intervenção (21 meses); Perimetria tibial do lado direito e do lado esquerdo; peso tecidual, uterino e ovariano ratas aderentes ao treinamento físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x/ semana/120 dias. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média,  $n = 12$  ratas/grupo. Os resultados foram analisados pelo teste de análise de variância ANOVA – *one way* seguido do teste de *Tukey*.

Grupos	Peso Corporal (g)		Perimetria Tibial (cm)		Peso Tecidual (g)	
	18 meses	21 meses	Direito	Esquerdo	Útero	Ovário
NT	390,4 $\pm$ 10,57	386,5 $\pm$ 11,61	4,060 $\pm$ 0,016	4,080 $\pm$ 0,032	0,990 $\pm$ 0,092	0,187 $\pm$ 0,013
TA	407,8 $\pm$ 10,41	395,9 $\pm$ 13,49	4,106 $\pm$ 0,029	4,094 $\pm$ 0,031	1,116 $\pm$ 0,133	0,219 $\pm$ 0,022
TR	399,7 $\pm$ 08,43	388,4 $\pm$ 11,39	4,112 $\pm$ 0,022	4,106 $\pm$ 0,020	1,073 $\pm$ 0,086	0,202 $\pm$ 0,011
TC	395,7 $\pm$ 08,38	388,6 $\pm$ 09,81	4,179 $\pm$ 0,018	4,171 $\pm$ 0,016	0,997 $\pm$ 0,090	0,199 $\pm$ 0,013

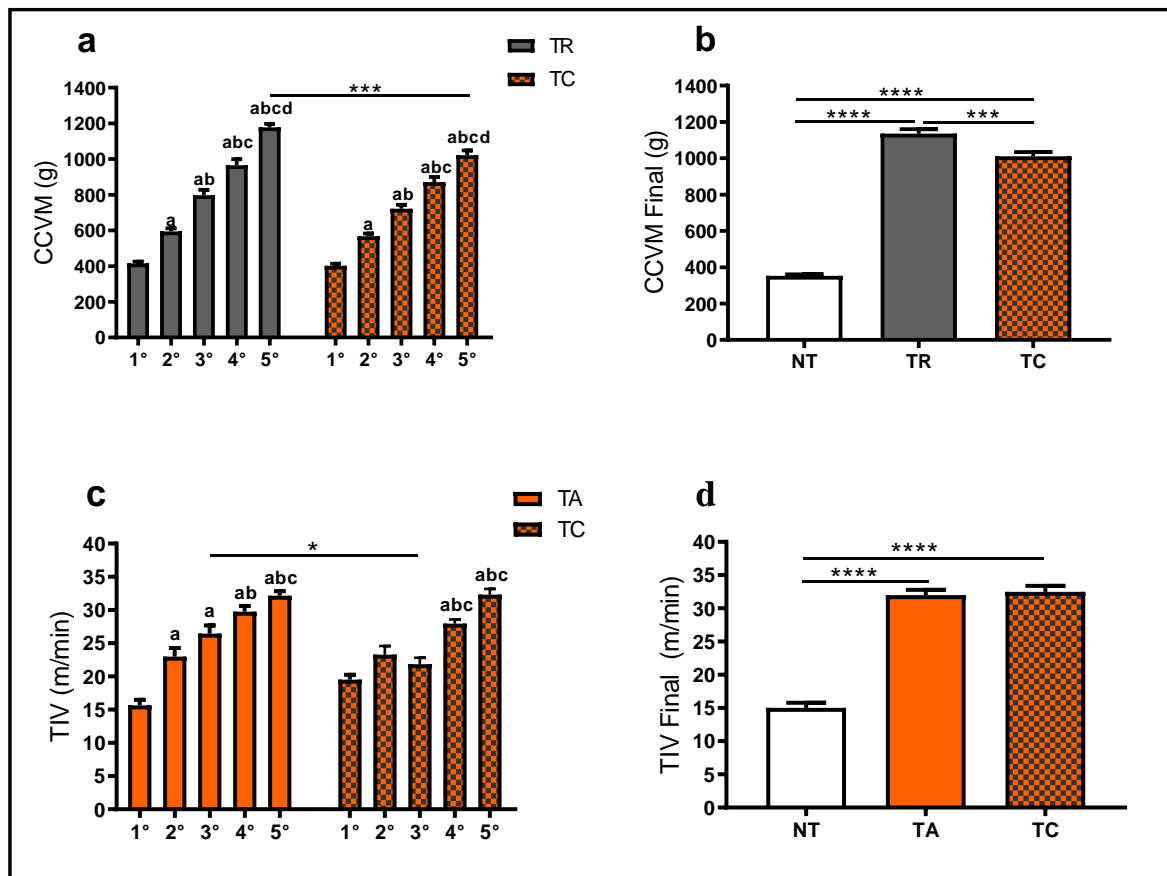
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

## 4.2 Capacidade de carregamento voluntário máximo (CCVM) e teste incremental de velocidade (TIV)

As ratas que realizaram exercício físico no período da periestro-pausa apresentaram melhor capacidade física comparada as ratas que não realizaram o treinamento físico (NT) (Fig.6), seja com o aumento da força, em média 67,14% superior (Fig. 6b), devido à intervenção de TR ou TC ( $p < 0.0001$ ), ou pelo aumento da velocidade, em média 28,38% superior (Fig. 6d), decorrente do TA ou intervenção de TC ( $p < 0.0001$ ). Quando analisado a evolução da performance durante o teste CCVM, foi observado melhora significativa tanto do TR ( $p < 0.0001$ ) como do TC ( $p <$

0.001) quando comparado com o teste anterior (Fig. 6a). Não foi observado diferença significativa quando comparamos os dois grupos na mesma fase de teste. O grupo TR apresentou maior carregamento em relação aos grupos NT ( $p < 0.0001$ ) e TC ( $p < 0.001$ ) (Fig. 6b). No teste de IST (Fig. 6c), o TA apresentou diferença significativa no segundo teste ( $p < 0.0001$ ) e o TC apresentou diferença significativa no quarto ( $p < 0.001$ ) e no quinto teste ( $p < 0.05$ ). Quando observado a diferença entre grupos na mesma fase de treino, foi possível notar superioridade do TA em relação ao TC no terceiro teste ( $p < 0.05$ ).

**Figura 6 – Teste de desempenho**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

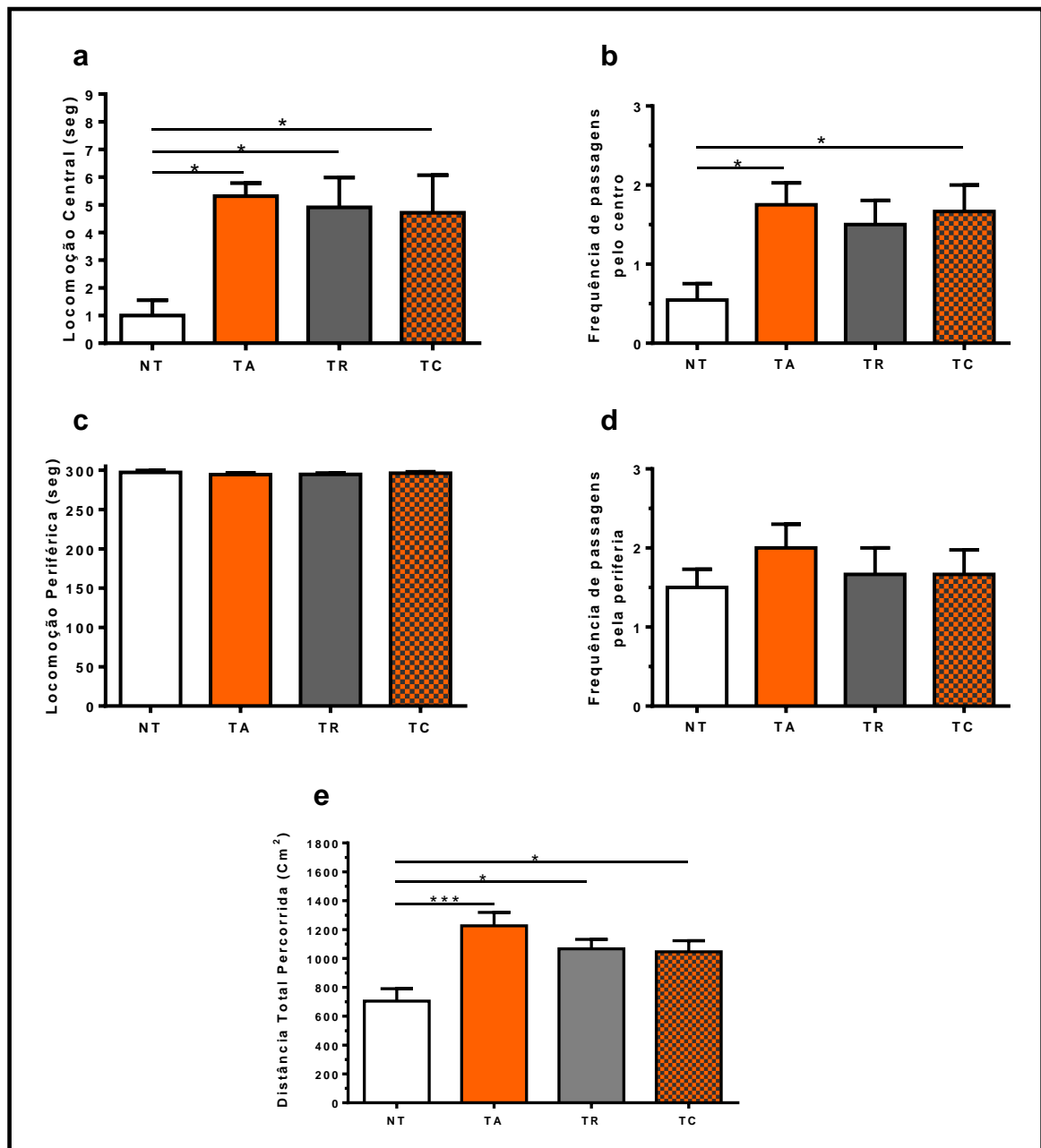
**Fig. 6 – Testes de desempenho físico de ratas senescentes, aderentes ao treinamento físico e inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias. (a) Evolução do desempenho durante as repetições do Teste de Capacidade de Carregamento Voluntário Máximo (CCVM); (b) CCVM final de ratas dos grupos NT, TA e TC; (c) Evolução do desempenho durante as repetições do teste de velocidade incremental (IST); (d) IST final de ratas dos grupos NT, TA e TC. Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média**

e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ); diferença a-d intragrupo (a vs 1°, b vs 2°, c vs 3°, d vs 4°;  $p < 0,05$ ).

### 4.3 Atividade locomotora de ratas senescentes

Os grupos que realizaram os treinamentos (TA, TR e TC) apresentaram maior locomoção central do que o grupo NT ( $p < 0,05$ ) (Fig. 7a), no entanto apenas os grupos TA e TC apresentaram maior frequência de passagens pelo centro ( $p < 0,05$ ) (Fig. 7b). Não houve diferença entre os grupos no tempo de permanência na periferia (Fig. 7c) e nem na frequência de passagem pela periferia (Fig. 7d). As ratas que realizaram os treinamentos (TA, TR e TC) tiveram maior distância percorrida quando comparada as ratas NT ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$  e  $p < 0,05$  respectivamente), sendo o TA de maior diferença ao NT ( $p < 0,001$ ). Não houve diferença entre os grupos submetidos aos treinamentos (Fig. 7e).

#### Figura 7 – Locomoção em campo aberto



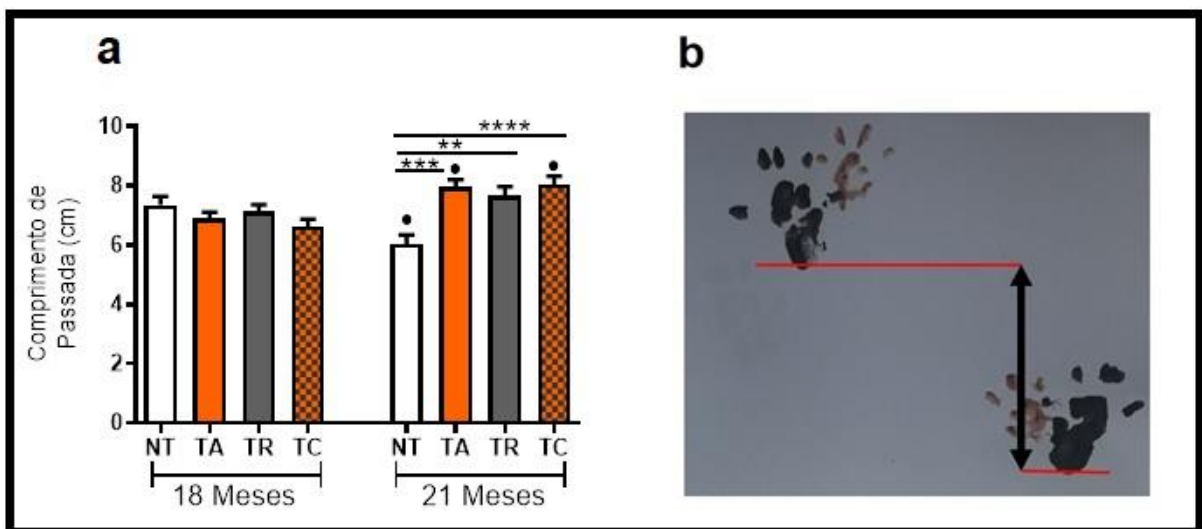
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 7** – Teste de campo aberto de ratas senescentes, aderentes ao treinamento físico e inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana /120 dias. (a) locomoção central, (b) frequência de passagens pelo centro, (c) locomoção periférica, (d) frequência de passagens pela periferia, (e) distância total percorrida. Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

#### 4.4 Análise de marcha

Os grupos TA e TC apresentaram maior comprimento da passada no teste final de deambulação (21 meses) quando comparados ao teste inicial (18 meses), enquanto as ratas não treinadas (NT) apresentaram diminuição no comprimento da passada ( $p < 0,005$ ). O comprimento da passada dos animais do grupo TR não diferiu do teste inicial (Fig. 8a). Aos 21 meses, os grupos submetidos aos treinamentos (TA, TR e TC) tiveram em média 23,5% maior comprimento da passada em comparação com as ratas do grupo NT ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,005$ ,  $p < 0,0001$  respectivamente), sem diferença entre os métodos de treinamento.

**Figura 8 – Deambulação**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 8** – Deambulação de ratas senescentes antes (18 meses) e após (21 meses) o período de treinamento físico (3x/semana/120 dias). (a) Comprimento da passada, (b) imagem da passada e modelo de análise de ratas aderentes aos exercícios físicos inseridas nos grupos: não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x / semana / 120 dias. Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ); • Diferença intragrupo 18 vs 21 meses.

## 4.5 Perfil bioquímico

Na análise plasmática do perfil bioquímico (Tab. 2), não foi possível observar diferença significativa nas concentrações da glicose no sangue (Gli), do lactato

desidrogenase (LDH), da transaminase Aminotransferase (AST) e da Fosfatase Alcalina (FAL). No entanto, as concentrações de lactato e de transaminase Alanina Aminotransferase (ALT) apresentaram maior contração nos grupos TR e TC quando comparados aos grupos NT e TA ( $p < 0,05$ ), porém não houve diferença entre os grupos TR e TC. As ratas submetidas ao treinamento resistido (TR), apresentaram menor concentração de fosfatase ácida tartarato-resistente (TRAP) quando comparadas as ratas que realizaram o treinamento concorrente ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2: Perfil Bioquímico:** Glicemia (Gli), Lactato, Lactato Desidrogenase (LDH), Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FAL) e Fosfatase Ácida Tartarato-Resistente (TRAP) de ratas aderentes ao treinamento físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x / semana / 120 dias. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 12$  ratas/grupo. Os resultados foram analisados pelo teste de análise de variância ANOVA – one way seguido do teste de Tukey. Símbolos: \* diferença estatística entre grupos ( $p < 0,05$ ).

Grupos	Perfil Bioquímico						
	Gli (mg/dL)	LDH (U/L)	Lactato (mg/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	FAL (U/L)	TRAP (U/L)
NT	109,4 $\pm$ 2,870	388,7 $\pm$ 46,69	47,65 $\pm$ 1,793	108,9 $\pm$ 5,765	54,70 $\pm$ 2,453	27,92 $\pm$ 1,572	10,87 $\pm$ 0,676
TA	115,5 $\pm$ 3,170	334,4 $\pm$ 26,26	45,27 $\pm$ 1,952	92,70 $\pm$ 6,128	61,88 $\pm$ 2,875	28,26 $\pm$ 2,012	09,82 $\pm$ 0,342
TR	119,5 $\pm$ 2,550	371,3 $\pm$ 37,87	38,20 $\pm$ 1,320	94,60 $\pm$ 11,87	81,21 $\pm$ 5,684	30,76 $\pm$ 1,214	09,13 $\pm$ 0,499
TC	113,6 $\pm$ 1,410	359,7 $\pm$ 39,98	40,95 $\pm$ 1,647	101,4 $\pm$ 10,91	76,77 $\pm$ 5,151	28,03 $\pm$ 2,192	11,89 $\pm$ 0,955

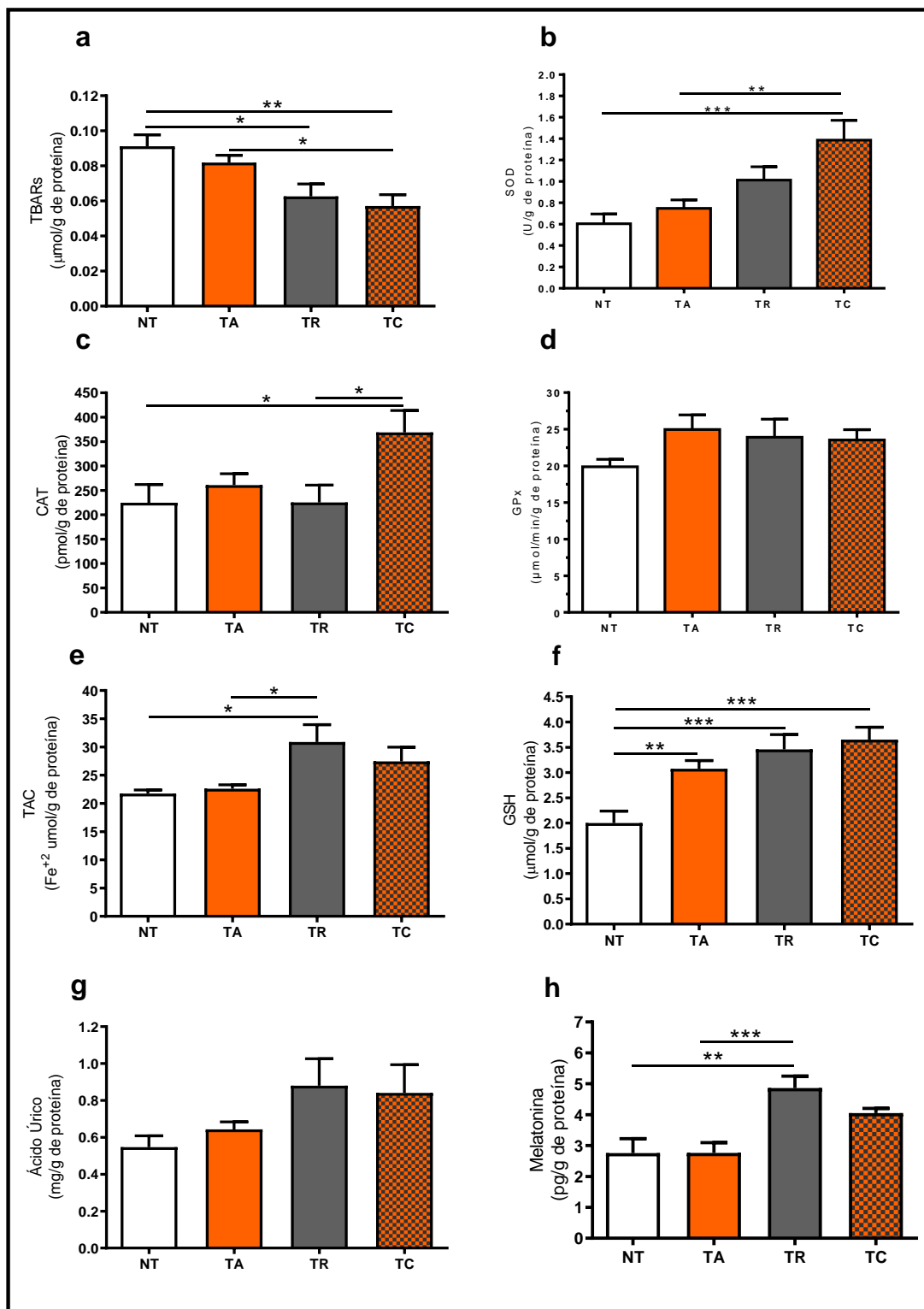
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

#### 4.6 Marcadores plasmáticos do estresse oxidativo

A concentração plasmática de malonaldeído (MDA) foi menor nos animais submetidos aos treinamentos resistido ( $p < 0,05$ ) e concorrente ( $p < 0,005$ ) comparados aos animais do grupo NT (Fig. 9a). O grupo TC apresentou menor concentração de MDA quando comparado aos grupos NT e TA ( $p < 0,005$  e  $p < 0,05$ , respectivamente), e não apresentou diferença estatística com o grupo TR. As ratas submetidas ao TC apresentaram maior atividade dos antioxidantes enzimáticos SOD ( $p < 0,001$ ) e CAT ( $p < 0,05$ ) quando comparadas aos grupos NT e TA (Fig. 9b,c). Não houve diferença estatística na análise de GPx (Fig. 9d). Foi possível observar que as ratas submetidas ao treinamento físico apresentaram maior concentração de marcadores antioxidantes

não enzimáticos, principalmente na concentração de GSH (Fig. 9f). O TR apresentou maior capacidade antioxidante total quando comparado aos grupos NT e TA ( $p < 0.05$ ), sem diferenças quando comparado ao grupo TC (Fig. 9e). Todos os grupos de animais submetidos aos treinamentos físicos (TA, TR e TC) apresentaram maior concentração de GSH quando comparados as ratas do grupo NT ( $p < 0,005$ ,  $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ , respectivamente) (Fig. 9f). Entretanto, não houve diferença entre os grupos submetidos aos treinamentos físicos na concentração de GSH (Fig. 9f). Não houve diferenças significantes na concentração plasmática de AU (Fig. 9g). O TR apresentou maior concentração de melatonina plasmática quando comparado aos grupos NT ( $p < 0,005$ ) e TA ( $p < 0,001$ ). Não houve diferença entre os demais grupos (Fig. 9h).

#### **Figura 9 – Biomarcadores do estresse oxidativo**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

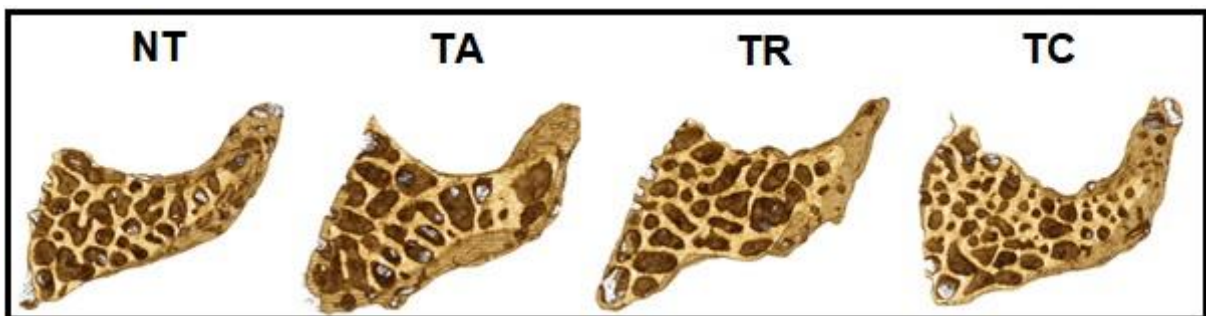
**Fig. 9** – Análise dos biomarcadores do estresse oxidativo de ratas aderentes ao treinamento físico, distribuídas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR) e treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias. (a) concentração de malonaldeído (MDA); (b) atividade de superóxido dismutase (SOD); (c) atividade de catalase (CAT) (d) atividade de glutatona peroxidase (GPx); (e) capacidade antioxidante total (TAC); (f) glutatona (GSH); (g) ácido úrico (AU); (h) melatonina. Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).



#### 4.7 Microarquitetura trabecular após treinamento físico

Qualitativamente (Fig.10), a partir de imagens representativas de micro-CT reconstruídas em 3D, foi possível observar melhor qualidade e quantidade de trabéculas ósseas nos grupos TR e TC, com o grupo TC apresentando conexões mais densas e menores espaços entre as trabéculas.

**Figura 10 – Análise qualitativa do osso trabecular**



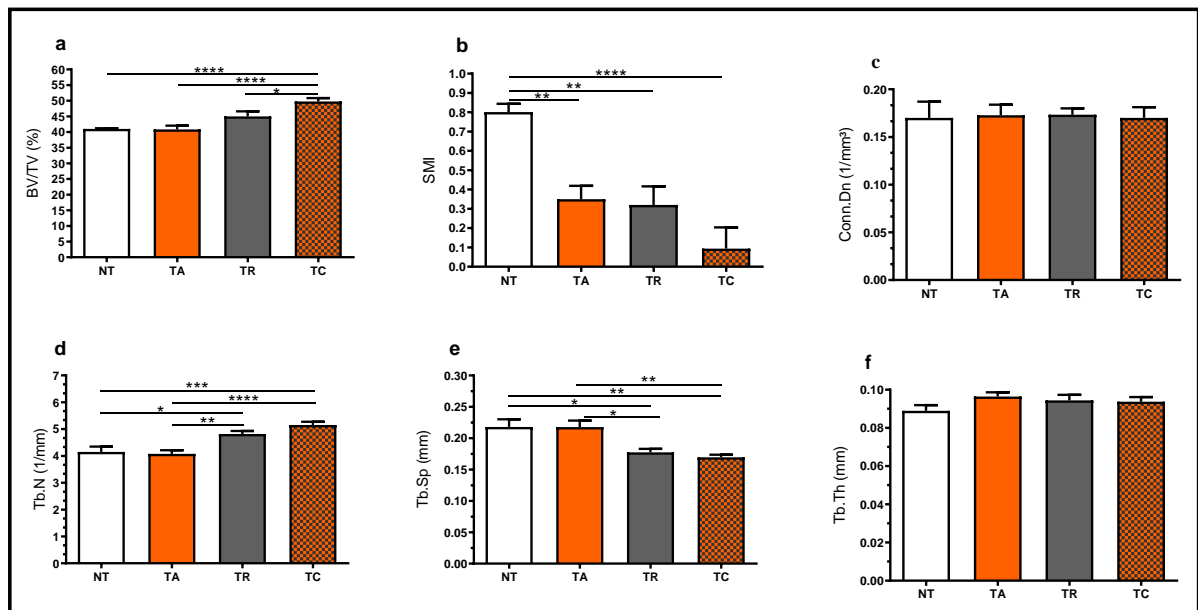
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 10** – Análise micro-CT do osso trabecular da região do colo do fêmur de ratas senescentes com 21 meses, imagem representativa da média de cada grupo de animais aderentes ao exercício físico e inseridos nos grupos: não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias.

Na análise quantitativa da microarquitetura trabecular (Fig.11), os animais do grupo TC apresentaram maior BV/TV (%) (Fig.11a) em relação ao NT ( $p < 0,0001$ ), TA ( $p < 0,0001$ ) e TR ( $p < 0,05$ ). Os grupos submetidos ao treinamento físico (TA, TR e TC) apresentaram, em média, SMI 68,5% menor em relação ao grupo não treinado (NT) (Fig.11b), com maior diferença em relação ao grupo TC ( $p < 0,0001$ ). Não foram observadas diferenças significantes na densidade de conectividade (Conn. Dn) (Fig.11c). O número de trabéculas (Tb.N) (Fig. 11d) foi maior nos grupos TC e TR em relação aos grupos NT ( $p < 0,05$  e  $p < 0,001$ , respectivamente) e TA ( $p < 0,005$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente). Os grupos NT e TA apresentaram maior separação entre as trabéculas (Tb.Sp) (Fig.11e) em comparação aos grupos TR ( $p < 0,05$ ) e TC ( $p$

<0,005). No presente estudo, a espessura trabecular (Tb.Th) não apresentou diferença após o treinamento (Fig.11f).

**Figura 11 – Análise quantitativa do osso trabecular**



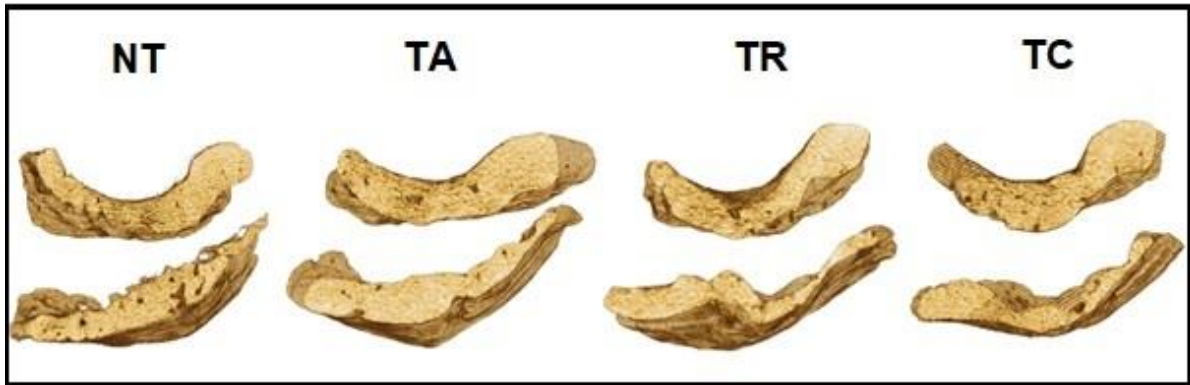
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 11** – Microtomografia da região trabecular do colo do fêmur de ratas aderentes ao exercício físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias. (a) Fração de volume ósseo (BV.TV, %), (b) Índice do modelo de estrutura (SMI), (c) densidade de conectividade (Conn.Dn, 1 / mm<sup>3</sup>), (d) número trabecular (Tb.N, 1 / mm), (e) separação trabecular (Tb.Sp, mm), (f) espessura trabecular (Tb.Th; mm). Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média ± erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

#### 4.8 Osso cortical após treinamento físico

Qualitativamente (Fig.12), a partir das imagens representativas da micro-CT do tecido cortical reconstruído em 3D, foi possível observar superioridade dos grupos de animais que realizaram os diferentes métodos de treinamento físico em relação aos animais não treinados.

**Figura 12 – Análise qualitativa do osso cortical**

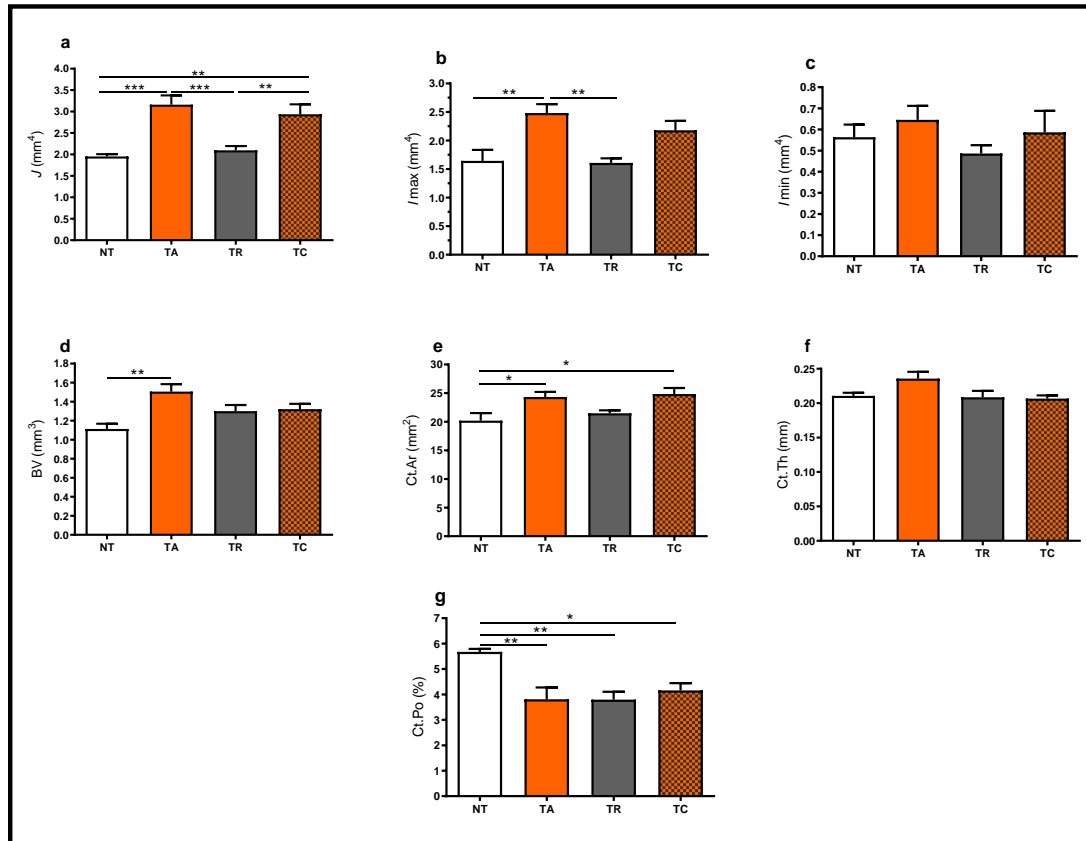


Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 12** – Análise micro-CT do osso cortical da região do colo do fêmur de ratas senescentes com 21 meses, aderentes ao exercício físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias.

A análise quantitativa (Fig. 13) evidencia resultado comprometido dos animais NT com menor volume ósseo (Fig. 13d), menor área de osso cortical (Fig. 13e) e grande quantidade de poros (Fig. 13g). Ressaltamos também o resultado positivo do TA em relação aos demais grupos, com maior volume ósseo e menor quantidade de poros (Fig. 13 d,g). A microarquitetura do osso cortical dos animais dos grupos TA e TC apresentou maior momento polar médio em relação aos grupos NT ( $p < 0,001$  e  $p < 0,005$ , respectivamente) e TR ( $p < 0,005$  e  $p < 0,05$ , respectivamente) (Fig.13a), sem diferenças na comparação entre os grupos TA e TC. Ao analisar o momento máximo de inércia (Fig.13b), o grupo TA atingiu máximo superior em relação aos grupos NT e TR ( $p < 0,005$ ). Não houve diferenças significantes no momento mínimo de inércia (Fig. 13c). As ratas submetidas ao TA apresentaram maior volume da cortical óssea (BV) (Fig.13d) quando comparados as ratas do grupo NT ( $p < 0,005$ ), sem diferenças entre os demais grupos. Os grupos que realizaram o treinamento aeróbio (TA e TC) apresentaram maior área cortical (Ct. Ar) (Fig.13e) em relação ao grupo NT ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças significantes na espessura cortical (Fig.13f), porém, os grupos submetidos aos treinamentos (TA, TR e TC) apresentaram em média 31% menos porosidade no tecido cortical em comparação com ratas não treinadas (NT) ( $p < 0,005$ ,  $p < 0,005$  e  $p < 0,05$ , respectivamente) (Fig. 13g).

**Figura 13 – Análise quantitativa do osso cortical**



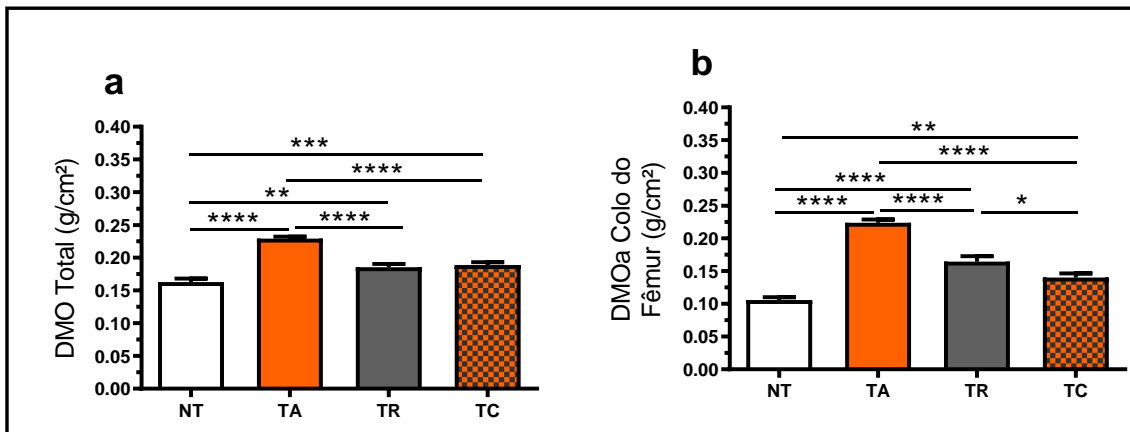
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 13** – Microtomografia da cortical do colo do fêmur de ratas senescentes aderentes ao exercício físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x/semana/120 dias. (a) momento polar de inércia ( $J$ ;  $\text{mm}^4$ ), (b) momento máximo de inércia ( $I_{\text{max}}$ ;  $\text{mm}^4$ ), (c) momento mínimo de inércia ( $I_{\text{min}}$ ;  $\text{mm}^4$ ), (d) volume ósseo (BV;  $\text{mm}^3$ ), (e) área do osso cortical (Ct.Ar;  $\text{mm}^2$ ), (f) espessura cortical (Ct.Th; mm), (g) porcentagem de porosidade cortical (Ct.Po;%). Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ).

#### 4.9 Densidade mineral óssea após treinamento físico

Ao analisar a densitometria óssea (Fig.14), foi possível observar efeito positivo do exercício físico (TA, TR e TC), tanto no fêmur total (Fig.14a) quanto no colo do fêmur (Fig.14b). Porém, o grupo que realizou o (TA) se destacou dos demais grupos de intervenção, com maior densidade óssea no colo e no fêmur total ( $p < 0,0001$ ). O grupo TR se destacou do grupo TC na análise da densidade do colo do fêmur ( $p < 0,05$ ), mas não apresentou diferenças significantes na densidade do fêmur total.

**Figura 14 – DEXA fêmur total e colo do fêmur**



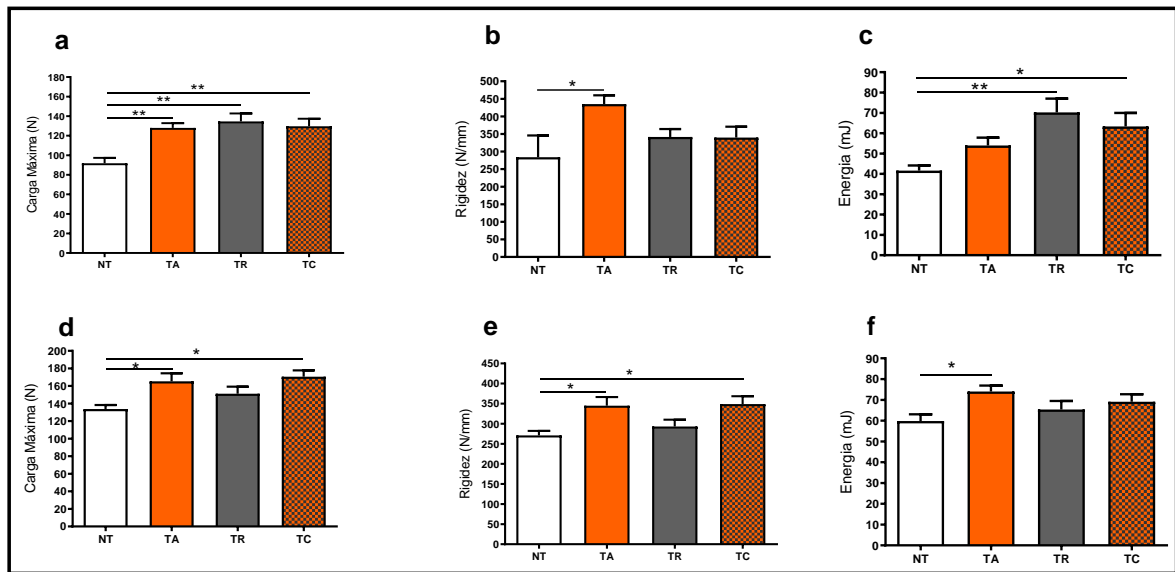
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 14** – Absortometria de raios-X de energia dupla *ex vivo* (DEXA): (a) densidade mineral óssea (DMO) do fêmur total, (b) densidade mineral óssea da área (DMOa) do colo do fêmur de ratas senescentes com 21 meses, aderentes ao exercício físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x / semana / 120 dias. Dados analisados pelo teste *One-way ANOVA*, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Símbolos: \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

#### 4.10 Força mecânica óssea após treinamento físico

Na análise do teste mecânico (Fig.15) os grupos submetidos aos treinamentos (TA, TR e TC) suportaram em média 30% mais carga na cabeça do fêmur em comparação ao grupo não treinado (NT) ( $p = 0,005$ ,  $p < 0,005$  e  $p < 0,005$ , respectivamente) (Fig.15a), sem diferença entre os grupos de treinamento. O grupo TA apresentou maior rigidez da cabeça do fêmur (Fig.15c) em relação ao grupo NT ( $p < 0,05$ ), sem diferenças entre os outros grupos. Os grupos que realizaram treinamento resistido (TR e TC) tiveram maior energia absorvida na cabeça do fêmur (fig. 15e) em comparação ao grupo não treinado ( $p = 0,005$  e  $p < 0,05$ , respectivamente). Ao analisar a flexão de três pontos na diáfise do fêmur (Fig.15b), os grupos TA e TC apresentaram maior força em relação ao grupo NT ( $p < 0,05$ ). A rigidez (Fig.15d) dos grupos TA e TC foi maior quando comparada ao grupo NT ( $p < 0,05$ ). Apenas o treinamento aeróbio (TA) (Fig.15f) apresentou maior energia absorvida em relação ao grupo NT ( $p < 0,05$ ).

**Figura 15** – Ensaio mecânico



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

**Fig. 15** – Teste biomecânico *ex vivo*: teste de compressão da cabeça do fêmur (a; b; c) e teste de flexão de três pontos (d; e; f) de ratas senescentes aos 21 meses, aderentes ao exercício físico, inseridas nos grupos não treinadas (NT), treinamento aeróbio (TA), treinamento resistido (TR), treinamento concorrente (TC), realizados 3x / semana / 120 dias. (a) carga máxima da cabeça do fêmur, (b) rigidez da cabeça do fêmur, (c) energia da cabeça do fêmur, (d) carga máxima de flexão de 3 pontos, (e) rigidez de flexão de 3 pontos, (f) energia de flexão de 3 pontos. Dados analisados pelo teste *One-way* ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentados em coluna com média  $\pm$  erro padrão da média e significância de 5% ( $p < 0,05$ ). \* Diferença entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

## 5 DISCUSSÃO

A partir dos resultados apresentados, foi possível verificar que os métodos de treinamento estudados foram capazes de aumentar o desempenho físico, seja a capacidade de carga ou teste de velocidade incremental, reduzir o estresse oxidativo, melhorar a microarquitetura trabecular e cortical, bem como a densidade mineral óssea, o que resultou em melhora da força óssea, locomoção e qualidade da marcha de ratas senescentes no período da periostropausa. Embora todos os treinamentos tenham apresentado melhora significativa nas variáveis estudadas, não condizentes com nossa hipótese inicial, o treinamento aeróbio (TA) e concorrente (TC) se destacaram sobre o treinamento resistido isolado (TR), e não apenas o TC como havíamos hipotetizado.

O período da perimenopausa é caracterizado pela redução considerável na concentração circulante de estrogênio, que também pode ser observada no período de periropausa e ropausa em ratas senescentes (NICOLA *et al.*, 2016). Essa redução tem consequências sistêmicas, com comprometimento da homeostase redox e instalação do estresse oxidativo. A geração de ERO é modulador chave da função das células ósseas, sendo crucial na regulação do processo de diferenciação dos osteoclastos, causando alterações no equilíbrio da formação e reabsorção óssea. Entre essas alterações, há o aumento de porosidade na região cortical óssea, alterando a passagem de fluidos, comprometendo os osteócitos, células mecanossensoriais responsáveis pela formação óssea na presença de estímulos mecânicos (CALLAWAY; JIANG, 2015; LANYON, 1996; VEHMANEN *et al.*, 2021; WAUQUIER *et al.*, 2009).

No presente estudo não foi possível observar diferença entre os grupos em relação ao peso corporal e marcadores metabólicos como a glicemia, LDH e AST. No entanto, as ratas do grupo NT apresentaram maiores concentrações de lactato do que as ratas submetidas aos treinamentos (TR e TC). As ratas que realizaram TA apresentaram concentração do lactato semelhante as ratas NT, sugerindo que o maior metabolismo aeróbio pode ter comprometido o metabolismo do lactato nos músculos esqueléticos (LIN *et al.*, 2018). A ALT, outro marcador metabólico, é principalmente encontrada no fígado e pode ser indicador de dano hepático (BANFI *et al.*, 2012). As ratas submetidas aos treinamentos resistido e concorrente apresentaram maiores quantidades de ALT que as ratas NT, resultado inversamente proporcional aos das concentrações de lactato. Esses resultados sugerem que a maior utilização da via glicolítica por estes métodos de treino e por consequência maior quantidade de gliconeogênese e trabalho hepático favoreceu o aumento desta transaminase, o que

também foi observado por outros autores (BANFI et al., 2012; HOLLENBERG et al., 2020; KRATZ et al., 2002; NAGEL et al., 1990; SAENGSIKISUWAN; PHADUNGKIJ; PHOLPRAMUOL, 1998).

O aumento do estresse oxidativo causa danos nas membranas mitocondriais, propiciando alterações em suas funções, como a redução da capacidade de fosforilação oxidativa e interrupções nas vias de biossíntese. Além disso, alterações no transporte de íons, favorece disfunções metabólicas e interfere na diferenciação de osteoprogenitores em osteoblastos maduros, comprometendo o equilíbrio da homeostase óssea e metabólica (HOLLENBERG *et al.*, 2020; LANE; HILSABECK; REA, 2015). O exercício físico é estratégia preventiva não farmacológica que reduz o dano oxidativo frequente nos indivíduos com mais idade e a inflamação crônica, aumenta a autofagia, melhora a função mitocondrial, mantendo o equilíbrio metabólico, além de ter a capacidade de transmitir poderosos estímulos mecânicos, estimulando os osteócitos e agindo positivamente na remodelação óssea, aumentando a formação óssea, reduzindo o risco de fratura, somados a outros benefícios oriundos da prática de exercício, como a melhora da musculatura e do equilíbrio, reduzindo a incidência de quedas (ANGULO *et al.*, 2020; HERRMANN *et al.*, 2020; TONG *et al.*, 2019).

O exercício aeróbio regular pode aumentar a formação de EROs, que pode causar danos significativos, mas toleráveis, graças as adaptações benéficas de regulação dos sistemas antioxidantes celulares e estimular os sistemas de reparo de danos oxidativos, mantendo assim o equilíbrio (GOMES *et al.*, 2017). O presente estudo demonstrou que o TA não contribuiu para diminuir o estresse oxidativo, nem para aumentar a capacidade antioxidante total. Entretanto, verificamos aumento de GSH, o que sugere seu envolvimento na redução do estresse oxidativo. Powers e



colaboradores (1994) demonstraram em seu trabalho que a produção de enzimas antioxidantes está relacionado a intensidade e volume do treinamento, onde ratos que correram em esteira por 60 minutos apresentaram maior ativação de SOD do que ratos que correram 30 minutos. Na presente metodologia, as ratas correram por 45 minutos, o que pareceu não ser o suficiente para aumentar a atividade antioxidante enzimática.

A literatura não apresenta dados sólidos a respeito do TA e seus benefícios no tecido ósseo (CHEN *et al.*, 2013; LANYON, 1996). No entanto, Martyn-St James e Carroll (2008) em seu estudo de meta-análise verificaram que a prática de 6 meses de treinamento aeróbico aumentou a densidade mineral óssea do colo do fêmur em mulheres na pós-menopausa (MARTYN-ST JAMES; CARROLL, 2008). Esses autores encontraram várias discrepâncias metodológicas, como diferentes tempos, intensidades, frequência de treinamento, o que pode ter comprometido outros resultados. Entretanto, um artigo de revisão sugere que a prática de somente caminhar não é capaz de melhorar a densidade óssea em mulheres com osteoporose (BENEDETTI *et al.*, 2018). Esses resultados divergem dos achados de Vehmanen *et al.*, (2021), em que a prática de TA, por 12 meses, preveniu reversivelmente a perda óssea do quadril em mulheres na pré-menopausa com câncer de mama em estágio inicial, persistindo até 3 anos após o término da prática dos exercícios (VEHMANEN *et al.*, 2021).

No presente estudo, a prática de 4 meses de TA por ratas durante a periostropausa resultou em melhora relevante na qualidade óssea. Principalmente no tecido cortical, obtendo maior volume ósseo (BV) e área cortical (Ct.Ar), além de apresentar maior momento polar de inércia médio, o que reflete rigidez torcional (HERRMANN *et al.*, 2020) e menor porosidade cortical. Essa contribuição do TA na

microarquitetura cortical é extremamente relevante, pois estudos mostram que a partir dos 60 anos, as mulheres apresentam redução média de 6,4% por década, além de aumentar a porosidade cortical (CHEN *et al.*, 2013). A espessura cortical e o número de poros estão diretamente associados à resistência óssea, sendo que a menor resistência torna o osso mais suscetível à fratura.

De maneira similar ao TA, as ratas submetidas ao TR apresentaram menor estresse oxidativo comparadas as ratas NT, mas assim como o TA não aumentou os antioxidantes enzimáticos. No entanto, apresentou maior concentração de GSH e maior capacidade antioxidante total, quando comparado com NT. Resultados semelhantes foram encontrados por Alikhani e Sheikholeslami-Vatani (2019) em mulheres mais velhas submetidas a 12 semanas de TR (ALIKHANI; SHEIKHOESLAMI-VATANI, 2019). Gomes *et al.*, (2017) apresentou relação da melhora do tecido muscular e redução do estresse oxidativo, onde o treinamento físico foi capaz de reverter as anormalidades do tecido muscular, como a sarcopenia e a redução de secções transversas do músculo, observados durante o envelhecimento (GOMES *et al.*, 2017).

Foi possível observar no presente estudo que as ratas submetidas ao TR apresentaram evolução considerável, carregando 222% a mais de carga no teste de CCVM em relação as ratas não treinadas, sugerindo melhora do tecido muscular. Efeitos positivos na qualidade óssea, como redução do SMI, redução da porosidade cortical, aumento do número de trabéculas e redução da separação trabecular, aumento da densidade e força óssea, melhor desempenho da marcha com maior comprimento da passada quando comparado ao grupo NT. Possivelmente esses resultados foram devidos à tensão promovida pela carga durante a subida na escada e estimulação mecânica, com grande tensão, compressão e força torcional gerando

sinais elétricos, estimulando o metabolismo ósseo e a aposição de minerais, causando efeito de remodelação adaptativa na microarquitetura óssea, melhorando as respostas osteogênicas (LANYON, 1996; MARQUES *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2020).

Estudos publicados pelo nosso grupo, mostraram o efeito do TR na microarquitetura óssea. Estudos com ratas ovariectomizadas aos 14 meses mostraram que o TR promoveu modificação do *turnover* ósseo e consequente melhoria da qualidade óssea (STRINGHETTA-GARCIA *et al.*, 2016). Esses resultados foram confirmados por outro trabalho (STRINGHETTA-GARCIA *et al.*, 2017), agora em ratas não ovariectomizadas de 21 meses de idade, onde a intervenção do TR melhorou a resistência óssea, atuando principalmente na região cortical. No estudo mais recente, Peres-Ueno e colaboradores (2020) demonstraram que o TR, além de melhorar a qualidade e resistência óssea, também aumenta a qualidade óssea no início da cicatrização e proporciona melhora na consolidação óssea após a osteotomia tibial (PERES-UENO *et al.*, 2020). Este estudo foi realizado com mudança metodológica específica quanto à quantidade de escaladas (estudos anteriores tiveram 6 escaladas) e ao tempo de descanso entre escaladas (estudos anteriores tiveram 2 minutos de intervalo) realizados em relação aos trabalhos apresentados acima (PERES-UENO *et al.*, 2020; STRINGHETTA-GARCIA, 2017; STRINGHETTA-GARCIA *et al.*, 2016).

O grupo TC apresentou a menor concentração de MDA e teve a melhor eficiência antioxidante, seja por ações enzimáticas, com maiores atividades de SOD e CAT, ou por ações não enzimáticas, por ação de GSH e GPx, possivelmente pelo maior recrutamento de diferentes tipos de fibras musculares (DA PALMA *et al.*, 2016; GOMES *et al.*, 2017). A literatura ainda apresenta dados vagos sobre o TC e o metabolismo ósseo (ARAZI; SAMADPOUR; EGHBALI, 2018), principalmente quando

se analisa mulheres no período da perimenopausa. Porém, foi possível observar no presente estudo que ratas no período da periostropausa submetidas à TC obtiveram desempenho físico muito semelhante as ratas submetidas aos treinamentos isolados (TA e TR). Esses resultados sugerem que não houve efeito de interferência nesta metodologia, onde a intensidade do exercício foi variável mais proeminente do que o volume de exercício, conforme observado por Sousa *et al.*, (2020) em seu trabalho (SOUSA *et al.*, 2020). No presente estudo, a intervenção com TC mostrou-se muito promissora para a melhora do tecido ósseo. Promoveu benefícios no tecido trabecular com menor SMI, maior volume ósseo, maior número de trabéculas bem como menor separação entre as trabéculas, além de melhora no tecido cortical proporcionar maior momento polar médio de inércia (J), maior área cortical (Ct. Ar) e menos porosidade. Palanca *et al.*, (2021) demonstraram em seu trabalho que o risco de fratura osteoporótica do quadril em queda lateral depende tanto da antropometria corporal quanto da resistência óssea (como variações morfológicas e grandes vazios subcorticais) (PALANCA; PERILLI; MARTELLI, 2021).

Ressaltamos que a realização de treinamento físico (TA, TR e TC) pelas ratas durante o período da periostropausa melhorou a resistência óssea do colo do fêmur, observada através dos testes de compreensão mecânica, e na diáfise do fêmur, verificada pela flexão de 3 pontos teste, reduzindo assim o risco de fraturas osteoporóticas. Esses resultados demonstram o impacto positivo do exercício físico na homeostase oxidativa, na biomecânica e na morfometria óssea, estimulando a mecanotransdução e a remodelação óssea. Vale ressaltar que a estimulação mecânica no osso fornece energia para a formação óssea, onde a aposição da nova matriz óssea permite a otimização da arquitetura do tecido, acelerando o processo de difusão e transporte dos metabólitos, favorecendo melhor formação óssea

(GOMARASCA; BANFI; LOMBARDI, 2020; MUSTAFY *et al.*, 2019; TURNER; ROBLING, 2005; WATSON *et al.*, 2018), atenuando assim os efeitos do envelhecimento.

O teste de campo aberto é amplamente utilizado para a investigação de síndromes comportamentais, ansiedade e atividade locomotora (PERALS *et al.*, 2017), ratos mais velhos apresentam comportamento exploratório e locomoção reduzida (RAZIYA BANU *et al.*, 2019; TÉGLÁS *et al.*, 2019), os resultados do presente estudo demonstram que os treinamentos físicos (TA, TR e TC), independentemente do método utilizado, reverteram os efeitos biológicos no período do envelhecimento no comportamento exploratório e na atividade locomotora. O aumento da força e da capacidade respiratória contribuíram para a melhora da locomoção, com maior distância total percorrida e maior exploração dos quadrantes centrais, revertendo os efeitos do envelhecimento (TÉGLÁS *et al.*, 2019).

Em humanos, a análise da marcha é amplamente utilizada e altamente associada ao risco de quedas e fraturas (CADORE *et al.*, 2013; TRAN *et al.*, 2019), além da variabilidade do tempo e do comprimento da passada estar relacionada às alterações cognitivas (MONTERO-ODASSO *et al.*, 2012). No modelo animal, o aumento no comprimento da passada está correlacionado com o aumento e manutenção da força muscular, melhora na resposta do nervo motor periférico, melhora nas associações centrais e redução ou ausência de dor nas articulações (BARBOSA *et al.*, 2019; BOETTGER *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2018; KLAPDOR *et al.*, 1997). No presente estudo, é possível observar que a realização de exercícios físicos, independentemente do método e durante a periostropausa, aumentou (TA e TC) ou manteve (TR) o comprimento da passada ao longo do tempo. Esta resposta é antagônica a verificada no grupo sedentário e em outros estudos (BARBOSA *et al.*,

2019; BOETTGER *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2020; KLAPDOR *et al.*, 1997; LORES-ARNAIZ *et al.*, 2019; SILVEIRA *et al.*, 2019) que encontraram correlação entre melhora da marcha, melhora cognitiva e melhora do tecido ósseo.

## 6 CONCLUSÃO

Mais estudos são necessários para análise mais completa dos mecanismos fisiológicos envolvidos em cada metodologia de treinamento aplicada neste estudo. A investigação de outras variáveis como volume, intensidade, tempo de treinamento e idade fornecerá indícios da melhor metodologia de treinamento a ser aplicada na prevenção de fraturas osteoporóticas.

O conjunto de resultados obtidos neste estudo enfatiza que o exercício físico realizado de forma regular, periodizado, com aumento progressivo da carga e aumento da velocidade por quatro meses, promoveu benefícios para a estrutura óssea e saúde, além de melhorar a capacidade física e deambulação de ratos durante o período de periostropausa. Portanto, além de confirmar que o TR é boa estratégia de intervenção, verificamos também que a realização de TA e TC desencadeou benefícios importantes para a estrutura óssea e qualidade da marcha, sendo alternativas de baixo custo financeiro e de fácil acesso à comunidade, que pode ser adotada como estratégia de prevenção de fraturas osteoporóticas.

## REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. In: **Methods in Enzymology**. [s.l.: s.n.]. v. 105p. 121–126.
- ALIKHANI, S.; SHEIKHOLESLAMI- VATANI, D. Oxidative stress and anti- oxidant responses to regular resistance training in young and older adult women. **Geriatrics & Gerontology International**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 419–422, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ggi.13636>>
- ANGULO, J.; EL ASSAR, M.; ÁLVAREZ-BUSTOS, A.; RODRÍGUEZ-MAÑAS, L. Physical activity and exercise: Strategies to manage frailty. **Redox Biology**, [s. l.], v. 35, n. Cdc, p. 101513, 2020. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213231720301178>>

ARAZI, H.; SAMADPOUR, M.; EGHBALI, E. The effects of concurrent training (aerobic-resistance) and milk consumption on some markers of bone mineral density in women with osteoporosis. **BMC Women's Health**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 202, 2018.

Disponível em:

<<https://bmcwomenshealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12905-018-0694-x>>

ARMAMENTO- VILLAREAL, R.; AGUIRRE, L.; WATERS, D. L.; NAPOLI, N.; QUALLS, C.; VILLAREAL, D. T. Effect of Aerobic or Resistance Exercise, or Both, on Bone Mineral Density and Bone Metabolism in Obese Older Adults While Dieting: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Bone and Mineral Research**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 430–439, 2020. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbmr.3905>>

AZIZIYEH, R.; AMIN, M.; HABIB, M.; GARCIA PERLAZA, J.; SZAFRANSKI, K.; MCTAVISH, R. K.; DISHER, T.; LÜDKE, A.; CAMERON, C. The burden of osteoporosis in four Latin American countries: Brazil, Mexico, Colombia, and Argentina. **Journal of Medical Economics**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 638–644, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13696998.2019.1590843>>

BANFI, G.; COLOMBINI, A.; LOMBARDI, G.; LUBKOWSKA, A. Metabolic markers in sports medicine. In: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l: s.n.]. v. cp. 1–54.

BARBOSA, G. M.; CUNHA, J. E.; CUNHA, T. M.; MARTINHO, L. B.; CASTRO, P. A. T. S.; OLIVEIRA, F. F. B.; CUNHA, F. Q.; RAMALHO, F. S.; SALVINI, T. F. Clinical-like cryotherapy improves footprint patterns and reduces synovial inflammation in a rat model of post-traumatic knee osteoarthritis. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 14518, 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-50958-8>>

BENEDETTI, M. G.; FURLINI, G.; ZATI, A.; LETIZIA MAURO, G. The Effectiveness of Physical Exercise on Bone Density in Osteoporotic Patients. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2018, p. 1–10, 2018. Disponível em:

<<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/4840531/>>

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269796902924>>

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, United States, v. 61, p. 882–888, 1963.

BIANCO, P.; CAO, X.; FRENETTE, P. S.; MAO, J. J.; ROBEY, P. G.; SIMMONS, P. J.; WANG, C.-Y. The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 35–42, 2013. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nm.3028>>

BLÜMEL, J. E.; LAVÍN, P.; VALLEJO, M. S.; SARRÁ, S. Menopause or climacteric,

just a semantic discussion or has it clinical implications? **Climacteric**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 235–241, 2014. Disponível em:

<<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13697137.2013.838948>>

BOETTGER, M. K.; WEBER, K.; SCHMIDT, M.; GAJDA, M.; BRÄUER, R.; SCHAIBLE, H.-G. Gait abnormalities differentially indicate pain or structural joint damage in monoarticular antigen-induced arthritis. **Pain**, [s. l.], v. 145, n. 1, p. 142–150, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.06.006>>

BONACCORSI, G.; PIVA, I.; GRECO, P.; CERVELLATI, C. Oxidative stress as a possible pathogenic cofactor of post-menopausal osteoporosis: Existing evidence in support of the axis oestrogen deficiency-redox imbalance-bone loss. **Indian Journal of Medical Research**, [s. l.], v. 147, n. 4, p. 341, 2018. Disponível em: <<http://www.ijmr.org.in/text.asp?2018/147/4/341/236360>>

BOSKEY, A. L.; COLEMAN, R. Aging and Bone. **Journal of Dental Research**, [s. l.], v. 89, n. 12, p. 1333–1348, 2010. Disponível em:

<<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034510377791>>

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: **MICROSOMAL LIPID PEROXIDATION**. [s.l: s.n.]. v. 71p. 302–310.

CADORE, E. L.; RODRÍGUEZ-MAÑAS, L.; SINCLAIR, A.; IZQUIERDO, M. Effects of Different Exercise Interventions on Risk of Falls, Gait Ability, and Balance in Physically Frail Older Adults: A Systematic Review. **Rejuvenation Research**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 105–114, 2013. Disponível em:

<<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/rej.2012.1397>>

CALLAWAY, D. A.; JIANG, J. X. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 359–370, 2015. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/s00774-015-0656-4>>

CENTER, J. R.; NGUYEN, T. V.; SCHNEIDER, D.; SAMBROOK, P. N.; EISMAN, J. A. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. **The Lancet**, [s. l.], v. 353, n. 9156, p. 878–882, 1999.

Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673698090758>>

CHEKROUD, S. R.; GUEORGUEVA, R.; ZHEUTLIN, A. B.; PAULUS, M.; KRUMHOLZ, H. M.; KRYSTAL, J. H.; CHEKROUD, A. M. Association between physical exercise and mental health in 1·2 million individuals in the USA between 2011 and 2015: a cross-sectional study. **The lancet. Psychiatry**, [s. l.], 2018.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221503661830227X>>. Acesso em: 18 ago. 2018.

CHEN, H.; ZHOU, X.; FUJITA, H.; ONOZUKA, M.; KUBO, K.-Y. Age-Related Changes in Trabecular and Cortical Bone Microstructure. **International Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 2013, p. 1–9, 2013. Disponível em:

<<http://www.hindawi.com/journals/ije/2013/213234/>>



CHEN, Y.-H.; KUO, T.-T.; KAO, J.-H.; HUANG, E. Y.-K.; HSIEH, T.-H.; CHOU, Y.-C.; HOFFER, B. J. Exercise Ameliorates Motor Deficits and Improves Dopaminergic Functions in the Rat Hemi-Parkinson's Model. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 3973, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-22462-y>>

CHODZKO-ZAJKO, W. J.; PROCTOR, D. N.; FIATARONE SINGH, M. A.; MINSON, C. T.; NIGG, C. R.; SALEM, G. J.; SKINNER, J. S. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. **Medicine and science in sports and exercise**, [s. l.], v. 41, n. 7, p. 1510–30, 2009. Disponível em: <<https://insights.ovid.com/crossref?an=00005768-200907000-00020>>

COOPER, K. H. **The Aerobics Program for Total Well-Being: Exercise, diet, emotional balance**. New York: Bantam Books, 1982.

DA PALMA, R. K.; MORAES-SILVA, I. C.; DA SILVA DIAS, D.; SHIMOJO, G. L.; CONTI, F. F.; BERNARDES, N.; BARBOZA, C. A.; SANCHES, I. C.; DA ROSA ARAÚJO, A. S.; IRIGOYEN, M.-C.; DE ANGELIS, K. Resistance or aerobic training decreases blood pressure and improves cardiovascular autonomic control and oxidative stress in hypertensive menopausal rats. **Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 1032–1038, 2016. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/jappphysiol.00130.2016>>

DAVIDSON, L. E.; HUDSON, R.; KILPATRICK, K.; KUK, J. L.; MCMILLAN, K.; JANISZEWSKI, P. M.; LEE, S.; LAM, M.; ROSS, R. Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults: a randomized controlled trial. **Archives of internal medicine**, [s. l.], v. 169, n. 2, p. 122–31, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19171808>>

DE MÉLO MONTENEGRO, I. H.; MOITA, L.; DOS REIS, F. K.; DE OLIVEIRA, E.; LISBOA, P.; DE MOURA, E.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; LEANDRO, C. Effects of a Moderate Physical Training on the Leptin Synthesis by Adipose Tissue of Adult Rats Submitted to a Perinatal Low-protein Diet. **Hormone and Metabolic Research**, Germany, v. 44, n. 11, p. 814–818, 2012. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0032-1316350>>

DISHMAN, R. K.; R.B.ARMSTRONG; M.D.DELP; R.E.GRAHAM; A.L.DUNN. Open-Field Behavior is not Related to Treadmill Performance in Exercising Rats. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 541–546, 1988. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031938488902065>>

DOS SANTOS, D. R.; SOUZA, R. O.; DIAS, L. B.; RIBAS, T. B.; DE OLIVEIRA, L. C. F.; SUMIDA, D. H.; DORNELLES, R. C. M.; NAKAMUNE, A. C. de M. S.; CHAVES-NETO, A. H. The effects of storage time and temperature on the stability of salivary phosphatases, transaminases and dehydrogenase. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 85, n. October 2017, p. 160–165, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000399691730345X>>

FERNANDES, F.; STRINGHETTA-GARCIA, C. T.; PERES-UENO, M. J.; FERNANDES, F.; NICOLA, A. C. De; CASTOLDI, R. C.; OZAKI, G.; LOUZADA, M. J. Q.; CHAVES-NETO, A. H.; ERVOLINO, E.; DORNELLES, R. C. M. Oxytocin and bone quality in the femoral neck of rats in periostropause. **Scientific Reports**, [s. l.],

v. 10, n. 1, p. 7937, 2020. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-020-64683-0>>

FERREIRA, A. F. F.; BINDA, K. H.; SINGULANI, M. P.; PEREIRA, C. P. M.; FERRARI, G. D.; ALBERICI, L. C.; REAL, C. C.; BRITTO, L. R. Physical exercise protects against mitochondria alterations in the 6-hidroxydopamine rat model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 387, n. February, p. 112607, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112607>>

FERREIRA, L. B.; DE NICOLA, A. C.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; DORNELLES, R. C. M. Activity of neurons in the preoptic area and their participation in reproductive senescence: Preliminary findings. **Experimental gerontology**, [s. l.], v. 72, p. 157–61, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0531556515300668>>

FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. **Fundamentos do treinamento de força muscular**. 4. ed ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

FÖGER-SAMWALD, U.; DOVJAK, P.; AZIZI-SEMRAD, U.; KERSCHAN-SCHINDL, K.; PIETSCHMANN, P. Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. **EXCLI journal**, [s. l.], v. 19, p. 1017–1037, 2020. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32788914>>

GOMARASCA, M.; BANFI, G.; LOMBARDI, G. Myokines: The endocrine coupling of skeletal muscle and bone. In: **Advances in Clinical Chemistry**. 1. ed. [s.l.] : Elsevier Inc., 2020. v. 94p. 155–218.

GOMES, M. J.; MARTINEZ, P. F.; PAGAN, L. U.; DAMATTO, R. L.; MARIANO CEZAR, M. D.; RUIZ LIMA, A. R.; OKOSHI, K.; OKOSHI, M. P. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. 20428–20440, 2017. Disponível em: <<https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.14670>>

GRANJEIRO, J.; FERREIRA, C.; JUCÁ, M.; TAGA, E.; AOYAMA, H. Bovine kidney low molecular weight acid phosphatase: FMN-dependent kinetics. **IUBMB Life**, [s. l.], v. 41, n. 6, p. 1201–1208, 1997. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1080/15216549700202291>>

GULLBERG, B.; JOHNELL, O.; KANIS, J. A. World-wide Projections for Hip Fracture. **Osteoporosis International**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 407–413, 1997. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/PL00004148>>

HALL, J. Neuroendocrine Changes with Reproductive Aging in Women. **Seminars in Reproductive Medicine**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 344–351, 2007. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-984740>>

HARTREE, E. F. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 422–427, 1972. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01412567>>

HÄUSER, W.; KLOSE, P.; LANGHORST, J.; MORADI, B.; STEINBACH, M.;

SCHILTENWOLF, M.; BUSCH, A. Efficacy of different types of aerobic exercise in fibromyalgia syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Arthritis research & therapy**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. R79, 2010.

Disponível em:

<[http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=20459730%5Cnhttp://sdb-web2.biblio.usherbrooke.ca/web2/tramp2.exe/do\\_keyword\\_search/guest&SETTING\\_KEY=french&servers=1home&index=ISSN&query=1478-6354%5Cnhttp://sfxhosted.exlibris](http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=20459730%5Cnhttp://sdb-web2.biblio.usherbrooke.ca/web2/tramp2.exe/do_keyword_search/guest&SETTING_KEY=french&servers=1home&index=ISSN&query=1478-6354%5Cnhttp://sfxhosted.exlibris)>

HENRIQUE, J. S.; FRANÇA, E. F.; CARDOSO, F. dos S.; SERRA, F. T.; DE ALMEIDA, A. A.; FERNANDES, J.; ARIDA, R. M.; GOMES DA SILVA, S. Cortical and hippocampal expression of inflammatory and intracellular signaling proteins in aged rats submitted to aerobic and resistance physical training. **Experimental Gerontology**, [s. l.], v. 110, p. 284–290, 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556518301669>>. Acesso em: 4 ago. 2018.

HENRY, R. J.; CHIAMORI, N.; GOLUB, O. J.; BERKMAN, S. Revised Spectrophotometric Methods for the Determination of Glutamic-Oxalacetic Transaminase, Glutamic-Pyruvic Transaminase, and Lactic Acid Dehydrogenase. **American Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 34, n. 4\_ts, p. 381–398, 1960.

Disponível em: <[https://academic.oup.com/ajcp/article/34/4\\_ts/381/4822747](https://academic.oup.com/ajcp/article/34/4_ts/381/4822747)>

HERRMANN, M.; ENGELKE, K.; EBERT, R.; MÜLLER-DEUBERT, S.; RUDERT, M.; ZIOUTI, F.; JUNDT, F.; FELSENBURG, D.; JAKOB, F. Interactions between Muscle and Bone—Where Physics Meets Biology. **Biomolecules**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 432, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-273X/10/3/432>>

HOLLENBERG, A. M.; SMITH, C. O.; SHUM, L. C.; AWAD, H.; ELISEEV, R. A. Lactate Dehydrogenase Inhibition With Oxamate Exerts Bone Anabolic Effect. **Journal of Bone and Mineral Research**, [s. l.], v. 35, n. 12, p. 2432–2443, 2020.

Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmr.4142>>

HORNBERGER JR., T. A.; FARRAR, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 16–31, 2004. Disponível em:

<<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/h04-002>>

HUIJGEN, H. J.; SANDERS, G. T. B.; KOSTER, R. W.; VREEKEN, J.; BOSSUYT, P. M. M. REVIEW. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 35, n. 8, p. 569–580, 1997. Disponível em:

<<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm.1997.35.8.569/html>>

HURLEY, B. F.; HANSON, E. D.; SHEAFF, A. K. Strength training as a countermeasure to aging muscle and chronic disease. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 289–306, 2011. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.2165/11585920-000000000-00000>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

IBGE, (Instituto Brasileiro de Geografia e estatística). **Projeção da População 2018:**

**número de habitantes do país deve parar de crescer em 2047.** 2018. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/21837-projecao-da-populacao-2018-numero-de-habitantes-do-pais-deve-parar-de-crescer-em-2047>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

IMS, I. M. S. **Menopause terminology.** 2021. Disponível em: <<https://www.imsociety.org/education/menopause-terminology/>>. Acesso em: 17 abr. 2021.

IWAMOTO, J.; TAKEDA, T.; SATO, Y. Interventions to prevent bone loss in astronauts during space flight. **The Keio Journal of Medicine**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 55–59, 2005. Disponível em: <[http://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/54/2/54\\_2\\_55/\\_article](http://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/54/2/54_2_55/_article)>

JANCKILA, A. J.; PARTHASARATHY, R. N.; PARTHASARATHY, L. K.; SEELAN, R. S.; HSUEH, Y.-C.; RISSANEN, J.; ALATALO, S. L.; HALLEEN, J. M.; YAM, L. T. Properties and expression of human tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5a by monocyte-derived cells. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 77, n. 2, p. 209–218, 2005. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1189/jlb.0504287>>

JOHNELL, O.; KANIS, J. A. An estimate of the worldwide prevalence, mortality and disability associated with hip fracture. **Osteoporosis International**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 897–902, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00198-004-1627-0>>

JOHNELL, O.; KANIS, J. A. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. **Osteoporosis International**, [s. l.], v. 17, n. 12, p. 1726–1733, 2006. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00198-006-0172-4>>

KANIS, J. a. Assessment of osteoporosis at the primary health care level. **World Health**, [s. l.], p. 339, 2007. Disponível em: <[http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO\\_Technical\\_Report.pdf](http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf)>

KARMEN, A.; WRÓBLEWSKI, F.; LADUE, J. S. TRANSAMINASE ACTIVITY IN HUMAN BLOOD. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 126–133, 1955. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/103055>>

KENNEL, P. F.; FONTENEAU, P.; MARTIN, E.; SCHMIDT, J. M.; AZZOUZ, M.; BORG, J.; GUENET, J. L.; SCHMALBRUCH, H.; WARTER, J. M.; POINDRON, P. Electromyographical and motor performance studies in the pmn mouse model of neurodegenerative disease. **Neurobiology of disease**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 137–47, 1996. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996196900145>>

KLAPDOR, K.; DULFER, B. G.; HAMMANN, A.; STAAY, F. J. Van Der. 1-s2.0-S0165027097000423-main. [s. l.], v. 75, n. June 1996, p. 1–6, 1997. Disponível em: <<papers2://publication/uuid/64C13530-D1A2-4F7A-8A21-5AF5CEB0E514>>

KRASCHNEWSKI, J. L.; SCIAMANNA, C. N.; POGER, J. M.; ROVNIAC, L. S.; LEHMAN, E. B.; COOPER, A. B.; BALLENTINE, N. H.; CICCOLO, J. T. **Is strength**

**training associated with mortality benefits? A 15 year cohort study of US older adults.** [s.l.] : Elsevier Inc., 2016. v. 87 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2016.02.038>>

KRATZ, A.; LEWANDROWSKI, K. B.; SIEGEL, A. J.; CHUN, K. Y.; FLOOD, J. G.; VAN COTT, E. M.; LEE-LEWANDROWSKI, E. Effect of Marathon Running on Hematologic and Biochemical Laboratory Parameters, Including Cardiac Markers. **American Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 118, n. 6, p. 856–863, 2002. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/14TY-2TDJ-1X0Y-1V6V>>

LAILER, P. M.; TAGA, E. M.; VAN ETTEN, R. L. Human liver acid phosphatases: Cysteine residues of the low-molecular-weight enzyme. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 216, n. 2, p. 512–521, 1982. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003986182902405>>

LANE, R. K.; HILSABECK, T.; REA, S. L. The role of mitochondrial dysfunction in age-related diseases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, [s. l.], v. 1847, n. 11, p. 1387–1400, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005272815001085>>

LANYON, L. E. Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in bone. **Bone**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. S37–S43, 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/8756328295003789>>

LAU, K. H.; ONISHI, T.; WERGEDAL, J. E.; SINGER, F. R.; BAYLINK, D. J. Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: potential use to assess bone resorption. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 458–462, 1987. Disponível em: <[http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-41018-0\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-41018-0_3)>

LEWIECKI, E. M.; ORTENDAHL, J. D.; VANDERPUYE-ORGLÉ, J.; GRAUER, A.; ARELLANO, J.; LEMAY, J.; HARMON, A. L.; BRODER, M. S.; SINGER, A. J. Healthcare Policy Changes in Osteoporosis Can Improve Outcomes and Reduce Costs in the United States. **JBMR Plus**, [s. l.], v. 3, n. 9, p. 1–7, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm4.10192>>

LI, X.; XU, J.; DAI, B.; WANG, X.; GUO, Q.; QIN, L. Targeting autophagy in osteoporosis: From pathophysiology to potential therapy. **Ageing Research Reviews**, [s. l.], v. 62, n. April, p. 101098, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568163720302336>>

LIN, C.-L.; LEE, M.-C.; HSU, Y.-J.; HUANG, W.-C.; HUANG, C.-C.; HUANG, S.-W. Isolated Soy Protein Supplementation and Exercise Improve Fatigue-Related Biomarker Levels and Bone Strength in Ovariectomized Mice. **Nutrients**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 1792, 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2072-6643/10/11/1792>>

LONG, J. A.; EVANS, H. M. The oestrous cycle in the rats and its associated phenomena. In: **Memoir of the University of California**. Berkeley: University of California Press, 1922. v. 6p. 1–48.

- LORES-ARNAIZ, S.; LOMBARDI, P.; KARADAYIAN, A. G.; CUTRERA, R.; BUSTAMANTE, J. Changes in motor function and brain cortex mitochondrial active oxygen species production in aged mice. **Experimental Gerontology**, [s. l.], v. 118, n. July 2018, p. 88–98, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.01.012>>
- MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. **European Journal of Biochemistry**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>>
- MARQUES, E. A.; WANDERLEY, F.; MACHADO, L.; SOUSA, F.; VIANA, J. L.; MOREIRA-GONÇALVES, D.; MOREIRA, P.; MOTA, J.; CARVALHO, J. Effects of resistance and aerobic exercise on physical function, bone mineral density, OPG and RANKL in older women. **Experimental Gerontology**, [s. l.], v. 46, n. 7, p. 524–532, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2011.02.005>>
- MARTYN-ST JAMES, M.; CARROLL, S. Meta-analysis of walking for preservation of bone mineral density in postmenopausal women. **Bone**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 521–531, 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328208002767>>
- MAZUR, F. G.; OLIVEIRA, L. F. G.; CUNHA, M. P.; RODRIGUES, A. L. S.; PÉRTILE, R. A. N.; VENDRUSCOLO, L. F.; IZÍDIO, G. S. Effects of physical exercise and social isolation on anxiety-related behaviors in two inbred rat strains. **Behavioural processes**, [s. l.], v. 142, n. October 2016, p. 70–78, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2017.06.001>>
- MAZZEO, R. S.; CAVANAGH, P.; EVANS, W. J.; FIATARONE, M.; HAGBERG, J.; MCAULEY, E.; STARTZELL, J. ACSM Position Stand: Exercise and Physical Activity for Older Adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 992–1008, 1998. Disponível em: <[https://www.unikore.it/phocadownload/userupload/2a12ea0a9a/American College of Sports Medicine 1998.pdf](https://www.unikore.it/phocadownload/userupload/2a12ea0a9a/American%20College%20of%20Sports%20Medicine%201998.pdf)>
- MCMICHAN, L.; DICK, M.; SKELTON, D. A.; CHASTIN, S. F. M.; OWEN, N.; DUNSTAN, D. W.; FRASER, W. D.; TANG, J. C. Y.; GREIG, C. A.; AGYAPONG-BADU, S.; MAVROEIDI, A. Sedentary behaviour and bone health in older adults: a systematic review. **Osteoporosis International**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1487–1497, 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00198-021-05918-2>>
- MENKES, A.; MAZEL, S.; REDMOND, R. A.; KOFFLER, K.; LIBANATI, C. R.; GUNDBERG, C. M.; ZIZIC, T. M.; HAGBERG, J. M.; PRATLEY, R. E.; HURLEY, B. F. Strength training increases regional bone mineral density and bone remodeling in middle-aged and older men. **Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 74, n. 5, p. 2478–2484, 1993. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/jappl.1993.74.5.2478>>
- MONTERO-ODASSO, M.; VERGHESE, J.; BEAUCHET, O.; HAUSDORFF, J. M. Gait and Cognition: A Complementary Approach to Understanding Brain Function and the Risk of Falling. **Journal of the American Geriatrics Society**, [s. l.], v. 60, n.

11, p. 2127–2136, 2012. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1532-5415.2012.04209.x>>

MORRIS, J. K.; VIDONI, E. D.; JOHNSON, D. K.; VAN SCIVER, A.; MAHNKEN, J. D.; HONEA, R. A.; WILKINS, H. M.; BROOKS, W. M.; BILLINGER, S. A.; SWERDLOW, R. H.; BURNS, J. M. Aerobic exercise for Alzheimer's disease: A randomized controlled pilot trial. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28187125>>

MUSTAFY, T.; LONDONO, I.; MOLDOVAN, F.; VILLEMURE, I. High Impact Exercise Improves Bone Microstructure and Strength in Growing Rats. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 13128, 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-49432-2>>

MYBIOSOURCE. **MBS1603376, Kit, General Melatonin ELISA.**, Mybiosource.com, 2015. Disponível em: <<https://www.mybiosource.com/general-elisa-kits/melatonin/1603376>>

NAGEL, D.; SEILER, D.; FRANZ, H.; JUNG, K. Ultra-Long-Distance Running and the Liver\*. **International Journal of Sports Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 06, p. 441–445, 1990. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-1024834>>

NELSON, M. E.; REJESKI, W. J.; BLAIR, S. N.; DUNCAN, P. W.; JUDGE, J. O.; KING, A. C.; MACERA, C. A.; CASTANEDA-SCEPPA, C.; AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE; AMERICAN HEART ASSOCIATION. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, [s. l.], v. 116, n. 9, p. 1094–105, 2007. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.185650>>

NICOLA, A. C.; FERREIRA, L. B.; MATA, M. M.; VILHENA-FRANCO, T.; LEITE, C. M.; MARTINS, A. B.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; POLETINI, M. O.; DORNELLES, R. C. M. Vasopressinergic Activity of the Suprachiasmatic Nucleus and mRNA Expression of Clock Genes in the Hypothalamus-Pituitary-Gonadal Axis in Female Aging. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 12, n. August, p. 1–13, 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.652733/full>>

NICOLA, A. C.; LEITE, C. M.; NISHIKAVA, M. M. B.; DE CASTRO, J. C. B.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; DORNELLES, R. C. M. The transition to reproductive senescence is characterized by increase in A6 and AVPV neuron activity with attenuation of noradrenaline content. **Experimental gerontology**, [s. l.], v. 81, p. 19–27, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0531556516301115>>

NOKIA, M. S.; LENSU, S.; AHTIAINEN, J. P.; JOHANSSON, P. P.; KOCH, L. G.; BRITTON, S. L.; KAINULAINEN, H. Physical exercise increases adult hippocampal neurogenesis in male rats provided it is aerobic and sustained. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 594, n. 7, p. 1855–1873, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1113/JP271552>>

- PALANCA, M.; PERILLI, E.; MARTELLI, S. Body Anthropometry and Bone Strength Conjointly Determine the Risk of Hip Fracture in a Sideways Fall. **Annals of Biomedical Engineering**, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 1380–1390, 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s10439-020-02682-y>>
- PERALS, D.; GRIFFIN, A. S.; BARTOMEUS, I.; SOL, D. Revisiting the open-field test: what does it really tell us about animal personality? **Animal Behaviour**, [s. l.], v. 123, p. 69–79, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000334721630255X>>
- PEREIRA, L. J.; MACARI, S.; COIMBRA, C. C.; PEREIRA, T. dos S. F.; BARRIONI, B. R.; GOMEZ, R. S.; SILVA, T. A.; PAIVA, S. M. Aerobic and resistance training improve alveolar bone quality and interferes with bone-remodeling during orthodontic tooth movement in mice. **Bone**, [s. l.], v. 138, n. April, p. 115496, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115496>>
- PERES-UENO, M. J.; FERNANDES, F.; BRITO, V. G. B.; NICOLA, Â. C.; STRINGHETTA-GARCIA, C. T.; CASTOLDI, R. C.; MENEZES, A. P.; CIARLINI, P. C.; LOUZADA, M. J. Q.; OLIVEIRA, S. H. P.; ERVOLINO, E.; CHAVES-NETO, A. H.; DORNELLES, R. C. M. Effect of pre-treatment of strength training and raloxifene in periostropause on bone healing. **Bone**, [s. l.], v. 134, n. January, p. 115285, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115285>>
- PICOLI, C. de C.; ROMERO, P. V. da S.; GILIO, G. R.; GUARIGLIA, D. A.; TÓFOLO, L. P.; DE MORAES, S. M. F.; MACHADO, F. A.; PERES, S. B. Peak velocity as an alternative method for training prescription in mice. **Frontiers in Physiology**, Switzerland, v. 9, n. FEB, p. 42, 2018.
- PINHEIRO, M. B.; OLIVEIRA, J.; BAUMAN, A.; FAIRHALL, N.; KWOK, W.; SHERRINGTON, C. Evidence on physical activity and osteoporosis prevention for people aged 65+ years: a systematic review to inform the WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 150, 2020. Disponível em: <<https://ijbnpa.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12966-020-01040-4>>
- PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 463, n. 1–3, p. 3–33, 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001429990301272X>>
- RAZIYA BANU, M.; IBRAHIM, M.; PRABHU, K.; RAJASANKAR, S. Ameliorative Effect of Withaferin A on Ageing-Mediated Impairment in the Dopamine System and Its Associated Behavior of Wistar Albino Rat. **Pharmacology**, [s. l.], v. 103, n. 3–4, p. 114–119, 2019. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/495510>>
- REID, I. R. A broader strategy for osteoporosis interventions. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 333–339, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41574-020-0339-7>>
- RUNGE, M.; RITTWEGER, J.; RUSSO, C. R.; SCHIESSL, H.; FELSENBURG, D. Is muscle power output a key factor in the age-related decline in physical performance?



A comparison of muscle cross section, chair-rising test and jumping power. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, [s. l.], v. 24, n. 6, p. 335–340, 2004.

Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1475-097X.2004.00567.x>>

SAENGSIRISUWAN, V.; PHADUNGKIJ, S.; PHOLPRAMUOL, C. Renal and liver functions and muscle injuries during training and after competition in Thai boxers.

**British Journal of Sports Medicine**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 304–308, 1998. Disponível em: <<https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjism.32.4.304>>

SIGAL, R. J.; KENNY, G. P.; BOULE, N. G.; WELLS, G. A.; PRUD, D.; FORTIER, M.; REID, R. D.; TULLOCH, H.; COYLE, D.; PHILLIPS, P.; JENNINGS, A.; JAFFEY, J. Annals of Internal Medicine Article Effects of Aerobic Training , Resistance Training , or Both on Glycemic Control in Type 2 Diabetes. **Ann Intern Med**, [s. l.], v. 147, p. 357–369, 2007.

SILVA, R.; CADORE, E.; KOTHE, G.; GUEDES, M.; ALBERTON, C.; PINTO, S.; PINTO, R.; TRINDADE, G.; KRUEL, L. F. Concurrent Training with Different Aerobic Exercises. **International Journal of Sports Medicine**, [s. l.], v. 33, n. 08, p. 627–634, 2012. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1299698>>

SILVEIRA, E. M. S.; KROTH, A.; SANTOS, M. C. Q.; SILVA, T. C. B.; SILVEIRA, D.; RIFFEL, A. P. K.; SCHEID, T.; TRAPP, M.; PARTATA, W. A. Age-related changes and effects of regular low-intensity exercise on gait, balance, and oxidative biomarkers in the spinal cord of Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 52, n. 7, p. 1–13, 2019. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X2019000700608&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2019000700608&tlng=en)>

SINGULANI, M. P.; STRINGHETTA-GARCIA, C. T.; SANTOS, L. F.; MORAIS, S. R. L.; LOUZADA, M. J. Q.; OLIVEIRA, S. H. P.; CHAVES NETO, A. H.; DORNELLES, R. C. M. Effects of strength training on osteogenic differentiation and bone strength in aging female Wistar rats. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 42878, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/srep42878>>

SMITH, P. J.; BLUMENTHAL, J. A.; HOFFMAN, B. M.; COOPER, H.; STRAUMAN, T. A.; WELSH-BOHMER, K.; BROWNDYKE, J. N.; SHERWOOD, A. Aerobic exercise and neurocognitive performance: a meta-analytic review of randomized controlled trials. **Psychosomatic medicine**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 239–52, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20223924>>

SOUSA, A. C.; NEIVA, H. P.; IZQUIERDO, M.; ALVES, A. R.; DUARTE-MENDES, P.; RAMALHO, A. G.; MARQUES, M. C.; MARINHO, D. A. Concurrent Training Intensities: A Practical Approach for Program Design. **Strength & Conditioning Journal**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 38–44, 2020. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1519/SSC.0000000000000520>>

STATTIN, K.; HÖIJER, J.; HÅLLMARKER, U.; BARON, J. A.; LARSSON, S. C.; WOLK, A.; MICHAËLSSON, K.; BYBERG, L. Fracture risk across a wide range of physical activity levels, from sedentary individuals to elite athletes. **Bone**, [s. l.], v.

153, p. 116128, 2021. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328221002933>>

STENGEL, S. Von; KEMMLER, W.; PINTAG, R.; BEESKOW, C.; WEINECK, J.; LAUBER, D.; KALENDER, W. A.; ENGELKE, K. Power training is more effective than strength training for maintaining bone mineral density in postmenopausal women.

**Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 181–188, 2005. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/jappphysiol.01260.2004>>

STRINGHETTA-GARCIA, C. T. . **Influência do treinamento de força associado ou não ao raloxifeno sobre o perfil transcricional e microestrutural ósseo de ratas wistar naturalmente envelhecidas**. 2017. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, [s. l.], 2017.

STRINGHETTA-GARCIA, C. T.; MORAIS, S. R. L.; FERNANDES, F.; PEREZ-UENO, M. J.; ALMEIDA, R. de P.; LOUZADA, M. J. Q.; CHAVES-NETO, A. H.; ERVOLINO, E.; DORNELLES, R. C. M. Effects of strength training and raloxifene on femoral neck metabolism and microarchitecture of aging female Wistar rats.

**Scientific reports**, England, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. Disponível em:

<<http://www.nature.com/articles/s41598-017-13098-5>>

STRINGHETTA-GARCIA, C. T.; SINGULANI, M. P.; SANTOS, L. F.; LOUZADA, M. J. Q.; NAKAMUNE, A. C. S.; CHAVES-NETO, A. H.; ROSSI, A. C.; ERVOLINO, E.; DORNELLES, R. C. M. The effects of strength training and raloxifene on bone health in aging ovariectomized rats. **Bone**, [s. l.], v. 85, p. 45–54, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2015.11.023>>

TAECHAKRAICHANA, N.; JAISAMRARN, U.; PANYAKHAMLERD, K.; CHAIKITTISILPA, S.; LIMPAPHAYOM, K. K. Climacteric: concept, consequence and care. **Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet**, [s. l.], v. 85 Suppl 1, p. S1-15, 2002. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12188398>>

TÉGLÁS, T.; NÉMETH, Z.; KOLLER, Á.; VAN DER ZEE, E. A.; LUITEN, P. G. M.; NYAKAS, C. Effects of Long-Term Moderate Intensity Exercise on Cognitive Behaviors and Cholinergic Forebrain in the Aging Rat. **Neuroscience**, [s. l.], v. 411, p. 65–75, 2019. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452219303604>>

TIMMONS, J. F.; MINNOCK, D.; HONE, M.; COGAN, K. E.; MURPHY, J. C.; EGAN, B. Comparison of time-matched aerobic, resistance, or concurrent exercise training in older adults. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, [s. l.], v. 353, n. 0, p. 0–1, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/sms.13254>>

TONG, X.; CHEN, X.; ZHANG, S.; HUANG, M.; SHEN, X.; XU, J.; ZOU, J. The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2019, p. 1–8, 2019. Disponível em:

<<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2019/8171897/>>

TRAN, J.; AYERS, E.; VERGHESE, J.; ABRAMOWITZ, M. K. Gait Abnormalities and the Risk of Falls in CKD. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**,

[s. l.], v. 14, n. 7, p. 983–993, 2019. Disponível em:  
<<https://cjasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.2215/CJN.13871118>>

TRIVEDI, R. C.; REBAR, L.; BERTA, E.; STONG, L. New enzymatic method for serum uric acid at 500 nm. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 11, p. 1908–1911, 1978.

TURNER, C. H.; BURR, D. B. Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. **Bone**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 595–608, 1993. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/875632829390081K>>

TURNER, C. H.; ROBLING, A. G. Mechanisms by which exercise improves bone strength. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, [s. l.], v. 23, n. SUPPL. 1, p. 16–22, 2005.

VEHMANEN, L.; SIEVÄNEN, H.; KELLOKUMPU-LEHTINEN, P.; NIKANDER, R.; HUOVINEN, R.; RUOHOLA, J.; PENTTINEN, H. M.; UTRIAINEN, M.; TOKOLA, K.; BLOMQVIST, C.; SAARTO, T. Five-year follow-up results of aerobic and impact training on bone mineral density in early breast cancer patients. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 473–482, 2021. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804920307474>>

WATSON, S. L.; WEEKS, B. K.; WEIS, L. J.; HARDING, A. T.; HORAN, S. A.; BECK, B. R. High-Intensity Resistance and Impact Training Improves Bone Mineral Density and Physical Function in Postmenopausal Women With Osteopenia and Osteoporosis: The LIFTMOR Randomized Controlled Trial. **Journal of Bone and Mineral Research**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 211–220, 2018. Disponível em:  
<<http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.3284>>

WAUQUIER, F.; LEOTOING, L.; COXAM, V.; GUICHEUX, J.; WITTRANT, Y. Oxidative stress in bone remodelling and disease. **Trends in Molecular Medicine**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 468–477, 2009. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471491409001415>>

WENDEL, A. Glutathione Peroxidase. **Methods in Enzymology**, [s. l.], v. 77, n. C, p. 325–333, 1981.

WHO, (World Health Organization). **Global recommendations on physical activity for health**. Switzerland: WHO Press, 2010. Disponível em:  
<[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44399/9789241599979\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44399/9789241599979_eng.pdf?sequence=1)>

WHO, W. H. O. **Research on the menopause in the 1990s : report of a WHO scientific groupWHO technical report series**. [s.l: s.n.]. Disponível em:  
<<https://apps.who.int/iris/handle/10665/41841>>.

ZHANG, J.; CHEN, G.; LU, W.; YAN, X.; ZHU, S.; DAI, Y.; XI, S.; YAO, C.; BAI, W. Effects of physical exercise on health-related quality of life and blood lipids in perimenopausal women. **Menopause**, [s. l.], v. 21, n. 12, p. 1269–1276, 2014.

Disponível em: <<https://journals.lww.com/00042192-201412000-00005>>

## ANEXO

O parecer de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia do *Campus* de Araçatuba – UNESP



### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Avaliação da neuroplasticidade hipocampal de ratas Wistar senescentes submetidas a diferentes métodos de treinamento físico**", Processo FOA nº 00826-2018, sob responsabilidade de Rita Cássia Menegati Dornelles apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 13 de Dezembro de 2018.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 26 de Dezembro de 2020.

**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 26 de Janeiro de 2021.

### CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Evaluation of hippocampal neuroplasticity of senescent Wistar rats submitted to different methods of physical training**", Protocol FOA nº 00826-2018, under the supervision of Rita Cássia Menegati Dornelles presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on December 13, 2018.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** December 26, 2020.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** January 26, 2021.

  
Prof. Ass. Dr. Leonardo Pérez Faverani  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba  
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP  
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br