

SIMONE ANGELINO SILVA

**EFEITO DO EXERCÍCIO AQUÁTICO NA
MENOPAUSA INDUZIDA POR OOFORECTOMIA.
ESTUDO CLÍNICO, BIOMECÂNICO E HISTOLÓGICO EM RATAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Bases Gerais da Cirurgia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, para a obtenção do título de Mestre em Bases Gerais da Cirurgia (Área de Reparação, Regeneração e Transplante de Tecidos e Órgãos).

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO SWAIN MÜLLER

Botucatu

2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Silva, Simone Angelino.

Efeito do exercício aquático na menopausa induzida por ooforectomia :
estudo clínico, biomecânico e histológico em ratas. – Botucatu : [s.n.], 2005.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista, 2005.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Swain Müller

Assunto CAPES: 40102149

1. Cirurgia experimental. 2. Tecidos – Transplantes. 3. Tranplante de órgãos
e tecidos, etc.

CDD 617.027

Palavras chave: Biomecânica; Histomorfometria e exercício; Menopausa.

*“A teoria é assassinada mais cedo
ou mais tarde pela experiência”*

(Albert Einstein)

*“Agradeço a Deus, por me auxiliar na realização desse trabalho,
com persistência e sabedoria”*

Dedicatória

*Dedico este trabalho ao meu pai, meu orgulho e exemplo de
sabedoria, o meu mais profundo e carinhoso amor.*

*Especialmente à minha mãe, exemplo de dedicação, amor e
respeito e por tudo que me ensinou ao longo da minha vida.*

*Ao meu irmão, companheiro de vida, pelo apoio recebido
durante a elaboração deste trabalho.*

*A toda minha família, que me ensina com suas atitudes a
não desistir frente aos obstáculos, o dever de manter-nos
sempre em união.*

Agradecimento Especial

Ao orientador Prof. Dr. Sérgio Swain Müller, responsável por minha iniciação no meio científico, agradeço a paciência, compreensão, dedicação e conhecimentos fundamentais para meu crescimento profissional, indispensáveis para a conclusão deste trabalho. Agradeço a atenção e expresso nesta dedicatória minha profunda admiração e respeito.

Agradecimento

Agradeço a todos que colaboraram na elaboração deste trabalho e em especial:

Ao **Prof. Titular Carlos Padovani** e **Prof. Dr. Flávio Aragon**, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências do Campus de Botucatu (UNESP) que gentilmente e prontamente realizaram as análises estatísticas;

Aos **Prof. Dr. Sérgio Luis Felisbino** e **Profa. Dra. Maeli Dal Pai Silva** pela orientação na histomorfometria, auxílio e condições oferecidas pelo Laboratório do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências do Campus de Botucatu (UNESP);

Ao **Prof. Dr. Rogério Dias**, do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP);

Aos **Profs. Drs. Raul Lopes Ruiz Júnior, Paulo Roberto de Almeida Silveiras** e **Trajano Sardenberg**, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelas sugestões;

Ao **CNPq**, por financiar e acreditar na minha capacidade;

Às secretárias **Marli Aparecida Alves Scarminio** e **Ivani de Souza Ribeiro**, pela responsabilidade com que executam seus trabalhos e pela gentileza demonstrada;

Aos funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), especialmente a Sra. **Maria Helena Spadot de Lima**, Sr. **Luis Carlos Bardella** e Sra. **Luzia Ferrari Galvea**, pelo auxílio nos trabalhos práticos, pelo domínio das técnicas e principalmente pela amizade demonstrada;

Aos funcionários do Laboratório Experimental do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), em especial a Sra. **Elenize Jamas Pereira**, pela utilização do analisador de imagens e auxílio nas leituras das lâminas, com muita dedicação, e ao Sr. **José Carlos Georgetti**, pela disponibilização do biotério, sempre com prontidão;

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), especialmente as secretárias **Solange Aparecida de Albuquerque Clara**, **Simone Barroso Corvino Camargo**, **Roberta Ribeiro Magro** e **Paola Casagrandi Cavallari** pela presteza e gentileza;

Ao Sr. **Carlos Luis Miguel**, Técnico em Informática do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pela digitação, montagem e edição das tabelas e figuras, edição do texto e organização da aula, com competência e simpatia;

A Sra. **Enilze de Souza Nogueira Volpato**, Diretora da Biblioteca do Campus de Botucatu (UNESP), e especialmente as bibliotecárias **Luciana Pizzani** e **Rosemary Cristina da Silva** pelo auxílio na revisão bibliográfica, dedicação e amizade, e a Sra. **Rosemeire Aparecida Vicente** pela elaboração da ficha catalográfica;

A Sra. **Regina Célia Spadin**, Sr. **Natanel Pinheiro Salles**, Sra. **Lílian Cristina N. Nunes** e Sra. **Janete A. H. Nunes Silva**, da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelo atendimento sempre com prontidão, a preocupação e a amizade demonstrada;

A **todos os professores e colegas** do Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia pelo apoio e ensinamentos compartilhados, **Afonso Shiguemi Inoue Salgado**, **Giancarlo Fellipe**, **Maristela Bordinhon Tiveron** e especialmente a **Claudia Patrícia Cardoso Martins Siqueira** agradeço a amizade demonstrada, principalmente em momentos de desânimo, encorajando-me;

A **Elaine Christina da Silva** pela contribuição, que foi fundamental na fase experimental, toda a minha gratidão;

A amiga **Renata Luzia Polastre Rodrigues** que colaborou de forma brilhante para meu crescimento profissional e intelectual com presteza nos momentos de ausência e amizade durante por todos esses anos;

Aos **meus pacientes** que gentilmente colaboraram para a realização desse trabalho.

RESUMO

Com o objetivo de investigar as repercussões clínicas, biomecânicas e histológicas no tecido ósseo de ratas submetidas a exercícios aquáticos após menopausa induzida por ooforectomia bilateral, foram estudadas 64 ratas adultas e virgens, *Rattus norvegicus albinus* (linhagem Wistar). Os animais foram divididos em oito grupos em relação ao tratamento: ooforectomia bilateral ou cirurgia placebo (simulada), realizada aos quatro meses de idade; ao tipo de atividade: exercício aquático (natação induzida) ou sedentário e tempo de sacrifício: três ou seis meses. O protocolo de exercício aquático, após treinamento inicial foi padronizado em 60 cm de água, à 32^oC e duração de 60 minutos. As ratas sedentárias se mantiveram nas caixas durante o experimento. Para o estudo clínico foi considerado o peso corpóreo dos animais até o momento do sacrifício. O estudo biomecânico foi realizado na tíbia direita, por meio de ensaio de flexão em três pontos, com velocidade de 30 mm/min, obtendo-se a carga máxima, o limite de elasticidade e o coeficiente de rigidez (calculados a partir do diagrama carga-deformação). Para o estudo histomorfométrico, utilizou-se a tíbia esquerda, e obtidos os parâmetros: área cortical (diáfise da tíbia) e área trabecular (metáfise proximal da tíbia). O estudo das variáveis clínicas, biomecânicas e histomorfométricas foram realizadas por meio da técnica da análise de variância (paramétrica ou não-paramétrica) para o esquema fatorial com três fatores (2 x 2 x 2-dois grupos, dois tipos de atividade física e dois momentos de sacrifício) complementada com os respectivos testes de comparações múltiplas. A análise dos resultados obtidos permitiu concluir que a menopausa induzida pela ooforectomia bilateral causou ganho de peso corpóreo compensado parcialmente pelo exercício físico; A associação exercício físico e hormônio melhorou a resistência óssea (carga máxima e limite de elasticidade), a estabilidade da estrutura (coeficiente de rigidez), aumentou a espessura da cortical e preservou a área trabecular.

Palavras-chaves: Menopausa, biomecânica, histomorfometria e exercício.

SUMMARY

With the objective of investigating the clinical, biomechanical and histological repercussions in osseous tissue in female rats submitted to aquatic exercise with induced menopause through oophorectomy, 64 virgin adult female rats were investigated, *Rattus norvegicus albinus* (Wistar lineage). The animals were divided in eight groups concerning to the treatment: bilateral oophorectomy or simulated surgery (accomplished at four months of age); to the activity type: aquatic exercise (swimming induced) or sedentarism; and to the time of physical activity: three months or/and six months. The protocol of aquatic exercise, after initial training, was patterned in water at 60 cm, at 32°C for 60 minutes. The sedentary female rats stayed in the cage during the experiment. For the clinical study the animals weight was considered at the moment of sacrifice. The biomechanical study was accomplished in the diaphysis of the right tibia, through flexing assay in three parts with speed load of 30 mm/min, getting the maximum load (parameter supplied by the assay machine), the limit of elasticity and the rigidity coefficient (calculated from the load-deformation diagram). The left tibia was used for the histomorphometric analysis, obtaining the parameters: cortical area (tibia diaphysis) and trabecular area (proximal tibia metaphysis). The study of the variables clinics, biomechanics and histomorphometry was accomplished through the technique of the analysis of variance analysis (parametric or nonparametric) for the factorial outline with three facts (2 x 2 x 2-two groups, two types of physical activity and two moments of sacrifice) using entirely the casual model complemented by the test of multiple comparisons. The analysis of the obtained results concludes that the menopause induced by bilateral ovariectomy caused a gain of weight partially compensated by physical exercise; The association of physical exercise and hormone improved the bone resistance (maximum load and limit of elasticity), the structure stability (rigidity coefficient), increased the cortical thickness and preserved the trabecular area.

Key words: Menopause, biomechanics, histomorphometry and exercise.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

Objetivo

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1- Animais de Experimentação

2.2- Delineamento

2.3- Fases do Experimento

2.4- Variáveis Estudadas

2.4.1 – Estudo Clínico: Peso Corpóreo

2.4.2 – Estudo Biomecânico: Propriedades Mecânicas

2.4.3 – Estudo Histológico: Histomorfometria

2.5- Seqüência dos Tempos Experimentais

2.5.1 - Seqüência dos tempos experimentais (1^a fase)

2.5.2 - Seqüência dos tempos experimentais (2^a fase)

2.5.3 - Seqüência dos tempos experimentais (3^a fase)

2.5.4 – Seqüência dos tempos experimentais (4^a fase)

2.6- Técnicas Utilizadas

2.6.1 - Manutenção

2.6.2 - Constituição dos grupos

2.6.3 - Identificação

2.6.4 - Anestesia

2.6.5 - Procedimento Cirúrgico

2.6.6 - Cuidados Pós-Operatório

2.6.7 - Protocolo de Exercício Aquático

2.6.8 - Protocolo do Grupo Sedentário

2.6.9 - Estudo Clínico

2.6.10 - Sacrifício

2.6.11 - Obtenção e preparo das peças anatômicas

2.6.12 – Estudo Biomecânico

2.6.13 - Estudo Histológico

2.7 - Método Estatístico

2.8 - Material e método (figuras)

3. RESULTADO

3.1 - Estudo Clínico

3.1.1 - Evolução

3.1.2 - Peso Corpóreo

3.2 - Estudo Biomecânico

3.2.1 - Carga Máxima

3.2.2 - Limite de Elasticidade

3.2.3 - Coeficiente de Rigidez

3.3 - Estudo Histológico

3.3.1 - Histomorfometria da Área Cortical

3.3.2 - Histomorfometria da Área Trabecular

3.4 - Resultado (figuras)

4. DISCUSSÃO

4.1 - Animal de Experimentação

4.2 – Delineamento

4.2.1 – Modelo de Menopausa

4.2.2 – Protocolo de Exercício

4.3 – Técnicas utilizadas

4.3.1 - Ooforectomia

4.3.2 – Ensaio Mecânico

4.3.3 – Estudo Histológico

4.4 – Resultados

4.4.1 – Estudo Clínico

4.4.2 – Propriedades Mecânicas

4.4.3 – Histomorfometria

4.5 – Considerações Finais

5. CONCLUSÃO

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INTRODUÇÃO

Osteoporose é considerada doença metabólica do osso, caracterizada por deterioração microarquitetural do tecido ósseo, com redução da massa óssea em níveis insuficientes para a função de sustentação, tendo como consequência elevado risco de fratura (Fernandes, 1999).

Sendo a mais comum das doenças ósseas metabólicas osteoporose é a denominação mais utilizada para as enfermidades de etiologias diversas, que causam redução da massa óssea por unidade de volume, isto é, há um desequilíbrio entre atividade osteoblástica e atividade osteoclástica (Costeira, 2001). Portanto, é considerada desordem metabólica do osso e não doença estabelecida (Souza, 1994; OMS, 1994).

Segundo a Campanha Nacional de Prevenção da Osteoporose de 2001, a osteoporose caracteriza-se pela diminuição progressiva do volume ósseo, acompanhada de modificações na arquitetura trabecular, aumento da fragilidade óssea e elevado risco de fraturas.

As fraturas osteoporóticas mais comuns são as da porção proximal do fêmur e terço distal do rádio, mais precisamente a fratura de Colle's (geralmente causada por quedas sobre a mão estendida) e afeta principalmente mulheres, sendo 90% delas no período pós-menopáusa, com idade média de 60 anos. Essa fratura é considerada como indicativa de osteoporose (Nordin, 1984).

As fraturas vertebrais decorrentes da osteoporose são tão comuns quanto as anteriores, levando em conta as deformidades compressivas da coluna vertebral. Independente da severidade, estudos estimam que um terço das mulheres acima de 65 anos têm uma ou mais fraturas vertebrais (Gallagher, 1980). Estas fraturas podem ser divididas em dois grupos: fratura vertebral por encunhamento ou por colapso, variáveis quanto à gravidade e à dor, e conhecidas como “eventos deformantes vertebrais permanentes”; podem se iniciar com o aumento da biconcavidade do corpo vertebral, ocasionando diminuição da estatura, seguida de encunhamento vertebral até o colapso completo do corpo da vértebra. Se esse encunhamento for único, em uma só vértebra, é possível que seja apenas consequência de um trauma, mas se for encontrado em duas ou mais

vértebras, especialmente se houver colapso associado, essa afecção, provavelmente será devida à osteoporose trabecular (Woolf, 1998).

Especialmente relacionadas a traumas leves, fraturas, geralmente de vértebras, antebraço distal e fêmur proximal em indivíduos idosos, são tradicionalmente atribuídas à osteoporose, podendo ser incluídas nessa classificação as fraturas pélvicas (Riggs, 1987).

Em função da ausência de sinais e sintomas, e dificuldades interpretativas quanto à origem do quadro clínico a osteoporose é chamada de doença silenciosa. As pessoas podem não saber que tem osteoporose até que os ossos estejam tão debilitados, que um movimento súbito, choque ou queda, cause uma fratura (Mabrey, 2001).

Como a perda de massa óssea não produz sintomas, nem sinais visíveis, a patologia progride e, num estágio mais avançado, geralmente a dor se inicia bruscamente, de forte intensidade, agudizada com movimentos mínimos, desconforto em pé e aliviada ao repouso. Essa dor aguda tem duração de no máximo seis semanas, podendo haver após esse período, dor residual, porém de menor intensidade, comprometimento da estatura, em razão do encunhamento vertebral por colapso ou fraturas vertebrais, lesões degenerativas dos discos e corpos vertebrais, e conseqüente diminuição do espaço intervertebral (Carvalho, 1996).

Os dados epidemiológicos e densitométricos permitem individualizar duas patologias, que fazem parte de um mesmo processo: a osteopenia, caracterizada por maior rarefação óssea em relação à idade, situação que é descrita algumas vezes, como osteoporose pré-clínica ou pré-fratura, na qual há necessidade de intervenção terapêutica; e osteoporose, caracterizada por menor densidade óssea e existência de fraturas axiais ou periféricas. A intervenção terapêutica tem a finalidade de estabilizar ou restaurar a massa óssea prevenindo recidivas (Borelli, 1994).

A osteoporose pode ser dividida em dois tipos: tipo I que corresponde à osteoporose pós-menopausa, com alta reabsorção óssea pelo fato da atividade osteoclástica estar acelerada em função da insuficiência estrogênica no climatério.

A velocidade da perda de massa óssea é observada mais no osso trabecular que no cortical, pois o primeiro apresenta maiores superfícies de reabsorção, e os efeitos desse tipo de osteoporose são mais evidentes na coluna e em alguns ossos periféricos, predispondo a fraturas da porção proximal do fêmur, corpos vertebrais e promovendo cifose dorsal. E tipo II, com reabsorção normal, ou ligeiramente aumentada, associada à atividade osteoblástica diminuída, correspondendo à osteoporose senil ou de involução, agindo tanto no osso trabecular como no cortical, podendo ocorrer fraturas em qualquer osso. Geralmente está presente em homens e mulheres acima dos 70 anos (Kaplan, 1995).

O esqueleto não é somente uma estrutura adaptável e bem articulada, mas também fonte dinâmica de reserva mineral na qual o corpo armazena cálcio e fósforo de forma metabolicamente estável e estruturalmente útil. Assim como a hipertensão é um matador silencioso, a osteoporose é um ladrão silencioso, que de maneira insidiosa rouba as reservas guardadas, por décadas, até que o osso fique tão fraco que não possa suportar o esforço mecânico rotineiro. Em ambas as patologias há freqüentemente longo período de latência antes que os sintomas clínicos ou as complicações se desenvolvam (Kaplan, 1995).

O osso é tecido vivo e se renova constantemente para manter a resistência, respondendo às tensões mecânicas ou lesões. Também é reservatório de cálcio. Formado por cristais de hidroxiapatita (fosfato de cálcio), imersos em matriz de proteínas colagenosas e não-colagenosas como a osteocalcina. Assim como a matriz de colágeno da pele se deteriora com a idade, o mesmo ocorre com o osso, contribuindo para a fragilidade (Woolf, 1996).

Os elementos orgânicos do osso consistem primariamente, como citado anteriormente, de matriz de colágeno e de proteínas não-colágenas, conhecidas como osteóides. O colágeno tipo I é a proteína estrutural mais abundante no osteóide. Os componentes inorgânicos constituem-se de hidroxiapatita, mineral macrocristalino insolúvel, inicialmente depositado na matriz orgânica como sais de fosfato de cálcio e, mais tarde, transformando-se em cristais de apatita (Kaplan, 1995).

Os ossos são compostos de um córtex externo de tecido compacto (camada cortical) e rede rígida de osso trabecular. Essas camadas são encontradas em diferentes proporções em todo o esqueleto. As diáfises dos ossos longos são compostas principalmente por osso cortical. As vértebras e as extremidades de ossos longos são constituídas basicamente por osso trabecular. Esse é mais ativo metabolicamente e perde-se mais rapidamente na menopausa, durante períodos de imobilidade/imobilização e durante tratamentos com corticosteróides. A perda de osso cortical é relacionada ao envelhecimento e ocorre a partir da meia-idade, com pequeno aumento dessa perda na menopausa (Woolf, 1996).

Nos ossos longos, as extremidades ou epífises são formadas por osso esponjoso com delgada camada superficial compacta. A diáfise (parte cilíndrica) é quase totalmente compacta, com pequena quantidade de osso esponjoso que delimita o canal medular (Junqueira & Carneiro, 1995).

Para que ocorra perda de massa óssea é necessário haver desequilíbrio entre formação e reabsorção de osso, que se dá por reabsorção excessiva ou produção insuficiente de osso. O processo de remodelação ocorre quando a camada óssea antiga é removida e, em seguida, é produzida nova camada. Essa remodelação é feita por pequenos grupos de células, chamados de unidade de remodelação ou unidades multicelulares ósseas. Inicialmente, os osteoclastos reabsorvem o osso e formam uma cavidade de reabsorção; os osteoblastos são, então, atraídos para a superfície reabsorvida e sintetizam uma matriz de osteóide; esse osteóide recém-formado sofre mineralização (calcificação); a junção do osteóide com o osso mineralizado é chamada de “frente de calcificação” (Woolf, 1996).

A formação do osso é estimulada por influências hormonais (estrógeno, andrógeno, hormônio de crescimento e tireoidianos) e por atividades de sustentação de peso. A reabsorção pode exceder a formação, em resposta a corticoesteróides em excesso (exógenos ou endógenos), baixos níveis de cálcio sérico, altos níveis de hormônio tireoidiano e falta de exercício de sustentação de peso. O estrógeno tem influência essencial no osso e inibe diretamente a

secreção da citocina interleucina 1 (IL-1) de monócitos periféricos e outras citocinas de osteoblastos pela ação do receptor estrogênico, fator de transição nuclear (Kaplan, 1995).

A osteoporose é um distúrbio conhecido desde o século seis DC. Pesquisa conduzida por Little em 1973, apresentou descrições de afecções ósseas, realizada por Paulus Aeginata, nessa época, mostrando compatibilidade com o quadro de osteoporose e referindo-se também às fraturas de quadril sem consolidação e “artrite” vertebral como consequência de “fraqueza das partes” (Griffin, 1990).

Relatos da era Hipocrática da Medicina, descreveram fraturas por perda de massa óssea principalmente em idosos que fraturavam os ossos aos mínimos esforços. Nas civilizações inca e asteca, há relatos de idosos que, ao sentarem abruptamente nos assentos de pedra, apresentavam fraturas de bacia (Carneiro, 1996).

Em 1824 Astley Cooper afirmou que nos idosos “os ossos se tornam mais finos em sua estrutura e esponjosos em sua textura”. Percebeu, também, que as fraturas da extremidade proximal do fêmur eram acompanhadas por traumas moderados, e mesmo antes da descoberta dos raios-X, que data de 1895, muitos médicos tinham percebido a fragilidade óssea dos idosos (Gordon et al, 1976). Apenas em 1940 a osteoporose foi associada ao estado pós-menopáusico, segundo estudos de Fuller Albright, mais tarde conhecido como “pai da osteoporose” (Griffin, 1990).

Em 1870 Wolff postulou, baseado em princípios biomecânicos, que carga mecânica promove deformação no osso e gera conseqüentemente estímulos para resposta óssea local (Cliquet, 2003). Em 1892, Julius Wolff descreveu as mudanças na arquitetura óssea interna e a conformação externa do osso que acompanhavam as mudanças na sustentação de peso pelo processo de remodelação esquelética. A Lei de Wolff é, em essência, a aplicação do postulado que a forma segue a função. Portanto, segundo esse mecanismo, exercícios com peso, aumentariam a densidade e resistência óssea. Embora os mecanismos pelo qual as células ósseas transformam estímulos mecânicos e bioelétricos em

resposta biológica útil ainda permaneçam enigmáticos as observações de Wolff permanecem válidas até hoje (Kaplan, 1995).

Tornando-se foco de atenção mundial, a partir de 1960, a osteoporose foi definida em 2001, pelo Consenso de Osteoporose como a “Epidemia do Século 21”. Entretanto, acomete a humanidade há milhares de anos. Em estudo realizado por Dequeker et al^{**}, realizado em múmia egípcia da XXII dinastia (1990-1786 a.C.), foram encontradas fraturas por achatamentos vertebrais e fratura do colo do fêmur e as radiografias mostraram porosidade óssea (Guarniero, 2004).

Com o desenvolvimento dos países há maior expectativa de vida em função de melhorias sócio-econômicas, tecnológicas, culturais, e o aparecimento de um novo fenômeno, chamado “a expectativa de envelhecer”, confirmada pela faixa etária de óbitos, no Brasil, ao redor dos 85 anos (Bynny, 1996).

A expectativa de vida aumenta, em função da melhora da qualidade de vida, porque a extensão da vida é fixa e o limite biológico é a idade máxima alcançável por cada espécie, até a falência natural do sistema biológico. Em relação a outros países, o Brasil exibe expectativa de vida de 64 anos para os homens e 69 para as mulheres apresentando, portanto, grande população de mulheres vivendo por tempo significativo após a menopausa (Bossemeyer, 1999).

A esperança de vida crescente tem estreitas relações com o paulatino aumento da longevidade humana. As proporções entre as populações masculina e feminina vêm diminuindo paulatinamente gerando um excedente feminino. Já a diferença entre a esperança de vida de homens e mulheres, atingiu 7,6 anos em 2000, sendo a masculina de 66,71 anos e a feminina de 74,29 anos. Os avanços da medicina e melhorias nas condições gerais de vida da população contribuíram para elevar a expectativa de vida dos brasileiros sendo em 2000 de 70,4 anos e deverá atingir os 81,3 anos em 2050, praticamente o mesmo nível do Japão, que é o primeiro colocado no ranking. O Brasil está em 89^o lugar, entre os 192 países ou áreas estudadas pela Organização das Nações Unidas e a média mundial para esperança de vida ao nascer era de 65 anos, em 2000 e deverá atingir os 74,3 anos entre 2045 e 2050 (IBGE, 2005).

A população brasileira ultrapassou 180 milhões de habitantes, segundo a Revisão 2004 da Projeção da População, realizada pelo IBGE, calculadas a partir do Censo 2000. As famílias estão tendo menos filhos havendo apenas reposição de gerações, ou seja, diminuição da taxa de fecundidade, em razão das transformações que afetam o mundo, inclusive a família brasileira, como a entrada da mulher no mercado de trabalho e a popularização de métodos anticoncepcionais.

A queda combinada das taxas de fecundidade e mortalidade vem ocasionando mudança na estrutura etária, com a diminuição relativa das populações mais jovens e aumento proporcional dos idosos. Em 1980, a população brasileira dividia-se igualmente, entre os que tinham acima ou abaixo de 20,2 anos. Em 2050 essa idade mediana será de exatos 40 anos. Outra comparação importante, em 2000, 30% dos brasileiros tinha de zero a 14 anos e 5% representavam os maiores de 65 anos. Em 2050, esses dois grupos etários se igualarão, cada um deles com 18% da população brasileira. Esses dados revelam a importância cada vez maior das políticas públicas relativas à previdência, diante do crescimento no número de indivíduos aposentados, em relação àqueles em atividade. Também, torna-se cada vez mais importantes às políticas de saúde voltadas para terceira idade, pois se em 2000, o Brasil tinha 1,8 milhões de pessoas com 80 anos ou mais, em 2050 esse contingente poderá ser de 13,7 milhões (IBGE, 2005).

A Conferência de Consenso e Desenvolvimento dos EUA, em 1993, forneceu dados apontando que 25 milhões de pessoas são afetadas pela osteoporose, tornando-se responsável por 1,3 milhões de fraturas por ano, sendo 500 mil na região da coluna, 240 mil no punho, principalmente fratura de Colles, e 200 mil no quadril gerando custo de 10 bilhões de dólares, sendo as fraturas, a maior repercussão clínica dessa patologia (Carvalho, 1996).

Uma em cada três mulheres de idade avançada e um em cada seis homens idosos sofrerão fratura proximal de fêmur, a mais grave das manifestações da osteoporose. Desses, 20% morrerão até um ano após a fratura

e outros 30% necessitarão de cuidado domiciliar prolongado (Kiel et al., 1987; Kanis & McCloskey, 1996).

A osteoporose desperta o interesse não só de pacientes acometidos, mas também da comunidade médica e científica, na busca de novos medicamentos, programas de tratamento padronizados ou individuais, nos quais seja possível abranger condicionamento cardiovascular, fortalecimento muscular, melhora da qualidade de vida e proteção contra quedas, uma das principais causas geradoras de incapacidade. O custo familiar e social é grande em função das conseqüências da osteoporose, sendo as fraturas, as complicações mais freqüentes que penalizam o paciente, a família e os serviços de saúde, gerando custos com internações e medicamentos, com longo tempo de recuperação e retorno, nem sempre satisfatório, as atividades de vida normal. É problema de saúde pública, pelo fato da doença e do tratamento serem multidisciplinares, incluindo especialidades como ortopedia, geriatria, ginecologia, fisioterapia e nutrição são importantes para resposta positiva ao tratamento, orientação, reposição hormonal, prática de exercícios físicos e ingestão adequada de cálcio e vitamina D, e também drogas como a calcitonina, o fluoreto de sódio, e os bifosfonatos entre outras (Griffin, 1990).

Na osteoporose, a maior atenção e preocupação está na população feminina, por ser altamente suscetível às alterações hormonais. A perda de massa óssea, em mulheres, pode começar aos 35 anos e progredir na razão de 1% ao ano até a menopausa. Após o término das menstruações, nos quatro e 5 anos subseqüentes, essa perda pode chegar de 2 a 4% ao ano e depois retornam aos níveis anteriores de 1% ao ano. Esse fato é confirmado quando se constata que a perda de massa óssea masculina começa aos 45 anos e segue continuamente com uma taxa de 0,5% ao ano. Além da diferença ser o dobro nas mulheres em relação aos homens, e começar, praticamente uma década antes, há um período no qual o parâmetro de perda de massa óssea ao ano cai abruptamente em até 3,5% (Santarém, 2001).

Os dados mencionados confirmam que a perda de massa óssea em homens é menor, chegando a 10 vezes menos que nas mulheres de mesma

idade. Os homens perdem osso à velocidade aproximadamente de 0,3% por ano. A velocidade nas mulheres é de 0,5% por ano, acelerando para 2 a 3% por ano após a menopausa e essa aceleração dura de 6 a 10 anos (Mabrey, 2001).

Embora a mulher na pós-menopausa possa ser considerada paciente típica de osteoporose, homens e mulheres de todas as idades podem ser afetados por essa condição, pois a perda óssea é consequência natural do envelhecimento, mas as fraturas não são necessariamente inevitáveis. A osteoporose e complicações podem ser prevenidas ou minimizadas (Kaplan, 1995).

Mulheres e osteoporose têm estreita relação em razão do aumento expressivo de patologias degenerativas e metabólicas numa determinada fase da vida, apresentando também maior predisposição, para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão arterial, obesidade, câncer e osteoporose que são somadas à perda de massa muscular e déficit nutricional. A deficiência de micronutrientes também se faz presente, havendo a necessidade de oferecer cuidados especiais a essas mulheres para evitar o comprometimento da qualidade de vida (Wheba, 1996).

A osteoporose pós-menopausa, juntamente com a senil, são formas primárias e consideradas involucionais. Existe, também, secundária, geralmente relacionadas a outras doenças ou fatores, como afecções endócrino-metabólicas (hereditárias ou não), reumatológicas, renais, neoplásicas e o uso de medicações que interferem no equilíbrio do cálcio como corticosteróides, anticonvulsivantes, antiácidos, entre outros.

A menopausa é primariamente caracterizada pelo hipoestrogenismo, ou seja, queda nos níveis padrões do hormônio estrogênio, que também tem influências, juntamente com outros esteróides sexuais, sobre o sistema nervoso central. Os estrogênios são considerados ativadores e responsáveis pelo aumento das atividades sensomotoras (como olfato, visão e audição), aumento da coordenação motora, memória, e como antidepressivo, ao contrário dos progestogênios, que são considerados inibidores e responsáveis por propriedades anestésicas, tranqüilizantes, estabilizador do humor, anticonvulsante e depressivo (Fernandes, 1999).

Menopausa é a cessação fisiológica da menstruação, acompanhada de sinais e sintomas, tais como calores, angústia, perturbações cardíacas, prurido, secura vaginal e outros (Costeira, 2001). Este termo é derivado do grego, *mens*: mês e *pausis*: pausa, definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 1981), como a parada permanente da menstruação, em consequência da perda definitiva da atividade folicular ovariana ocorrendo, na maioria dos países industrializados, em torno dos 50 anos de idade (48-52).

Outros autores afirmaram que a menopausa é o período a partir da última menstruação até o final da vida. Nesse momento há a passagem da pré-menopausa para a perimenopausa ou menopausa propriamente dita. A perimenopausa na verdade é um período de transição entre a pré-menopausa e a pós-menopausa. Na menopausa, o fator crítico é a queda dos níveis de estrógeno, que diminui a absorção intestinal de cálcio e aumenta a sensibilidade dos ossos à ação de absorção do paratormônio (Santarém, 2001).

O ovário, após a menopausa, não é um órgão totalmente inativo, permanece como glândula capaz de produzir androgênios. Estimulados pelos altos níveis de gonadotrofinas, após a menopausa, os ovários se tornam atróficos, amarelados, enrugados e pesando menos que 10 gramas. O volume diminui progressivamente, de aproximadamente 8 cm³, antes da menopausa, para 3 a 5cm³ após 30 anos de menopausa. Em cortes microscópicos pode-se notar a cortical ovariana pós-menopausa fina com ausência de folículos ou corpos lúteos atróficos (Ferriani, 1999).

O climatério, que também vem do grego *klimactor*: crise, é chamado de período de crise ou mudança, entre o período reprodutivo ou menacme e não reprodutivo ou senilidade, inicia-se em torno dos 40 anos de idade e termina ao redor dos 65 anos.

Os aspectos clínicos do climatério se apresentam de forma, relativamente desordenada e com imbricamento de componentes, espelhando a insuficiência estrogênica. Esses aspectos se dividem em três fases: primeira fase, chamada de fase precoce com alterações menstruais, fogachos, sudorese, insônia e sintomas psicológicos; segunda fase, chamada de perimenopausa na qual nota-

se atrofia vaginal, disfunção sexual, urgência e/ou incontinência urinária e atrofia da pele; e terceira fase, chamada de fase tardia na qual já ocorre osteoporose, doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer (Thornycroft, 1995 Bossemeyer, 1999).

Vale ainda ressaltar os aspectos psíquicos e sociais como, medo de envelhecer, preocupação com a auto-imagem, instabilidade conjugal, síndrome do ninho vazio e competição com o marido (Bossemeyer, 1999).

Entre as medidas profiláticas que podem melhorar a qualidade de vida após a menopausa, destaca-se a prática de exercícios físicos.

São muitos os estudos, procurando investigar os efeitos do exercício no esqueleto e como aplicá-los de forma preventiva ou ferramenta terapêutica. Os exercícios afetam o perfil mecânico e fisiológico, podendo alterar inclusive o fluxo sanguíneo a nível celular e o estresse fisiológico que podem limitar potencialmente o início da modelação e remodelação óssea e, essa influência mecânica, pode interferir no processo de adaptação óssea. Judex et al. (1999) afirmaram que os exercícios de alta intensidade e longa duração são os mais benéficos. A relação entre estímulo mecânico e resposta óssea, é dado importante para delinear programa de exercício que vise aumentar a massa óssea em esqueleto maduro, saudável e prevenir perda óssea patológica em idosos. Outros fatores fisiológicos que podem afetar a resposta óssea como dietas pobres em cálcio, elevada ingestão de gorduras saturadas e açúcar, que podem alterar a quantidade e qualidade óssea, além de interferir no processo adaptativo aos exercícios. Concluiu-se, portanto, que a resposta óssea obtida com o aumento do estímulo mecânico é complexa, e não completamente entendida, mas há concordância no fato que exercícios apropriados, são importantes para manter e melhorar a estrutura esquelética (Judex et al., 1999).

Os exercícios realizados contra a gravidade ajudariam a reduzir o índice de perda de massa óssea principalmente nas mulheres pós-menopáusicas. Atividades com suporte de peso, como caminhada e corrida, combinam gravidade e contração muscular, sobrecarregando mecanicamente os ossos, principalmente das extremidades inferiores e da coluna. A natação pode aumentar a sobrecarga

mecânica em alguns locais como o rádio e metatarsos, porém parece ser insuficiente para vértebras lombares e a conservação da massa óssea no esqueleto axial. Outros benefícios além dos mencionados na conservação óssea são neuropsicológicos, afetivos, bioquímicos, cardiovasculares, além do aumento da massa muscular e diminuição da massa adiposa, contribuindo para o controle da obesidade. Recomenda-se que, durante o climatério, as pacientes façam caminhadas cerca de 3 a cinco vezes por semana, em ritmo de marcha moderada, com duração de 30 a 40 minutos, em local plano e arborizado e, antes de iniciar, realizar aquecimento muscular, afirma o autor (Fernandes, 1999).

A natação difere de outras atividades realizadas no solo, por diferenças óbvias como a necessidade de despender energia para flutuar e, ao mesmo tempo, realizar movimentos com os membros combinados ou separados, consumo de energia para superar as forças de resistência (atrito) que depende do meio líquido, das dimensões, da forma e velocidade do nadador. Portanto, o custo energético para nadar determinada distância é cerca de quatro vezes maior que o custo para correr a mesma distância (McArdle, 1998).

A posição do Colégio Americano de Medicina Desportiva sobre Osteoporose e Exercício é que a atividade física não pode ser recomendada como substituto para a terapia de reposição hormonal após a menopausa, apesar da atividade com sustentação de peso ser essencial para o desenvolvimento normal e manutenção de esqueleto sadio. Um programa de atividade geral, pode reduzir indiretamente o risco de fraturas osteoporóticas, diminuindo o risco de quedas e permitindo que, mulheres mais idosas permaneçam ativas, minimizando a perda óssea pela inatividade (McArdle, 1998).

Indivíduos com osteoporose diagnosticada apresentam elevado risco de danos ao esqueleto. A atividade física regular poderia contribuir para prevenir a osteoporose, sendo a conservação da massa óssea o primeiro benefício do exercício em ossos adultos. Nos idosos, melhorar a aptidão e a força muscular, serviria para prevenir quedas e reduzir o risco de fraturas, além de reduzir os padrões de perda óssea. Os benefícios dos exercícios para a osteoporose podem incluir, redução da dor, aumento da mobilidade, melhora da resistência muscular,

balanço e equilíbrio, estabilidade e melhora da qualidade de vida. Em mulheres na pós-menopausa apesar de menos efetivo que o estrogênio para a manutenção da densidade mineral óssea, os exercícios significam, parte de um estilo de vida prescrito para redução de fraturas. Como parte das recomendações, programas de exercícios específicos para a osteoporose, procuram evitar a acentuação do quadro osteoporótico, a manutenção dos ossos e, para indivíduos mais frágeis, com alterações posturais, que sofrem de dores, pobres em balanço ou equilíbrio, poderiam se beneficiar dos exercícios aquáticos, hidroginástica, hidroterapia ou exercícios realizados em casa, com baixa intensidade e regularmente (Forwood, 2000).

Acompanhamento de casos permitiu afirmar que a prevenção é a chave contra a doença e que o aporte de cálcio deve ser iniciado na infância e se estender até a faixa dos 25 anos aproximadamente, porque nessa faixa de idade o organismo atinge o pico de massa óssea, demonstrando que, quanto maior quantidade de osso que o indivíduo armazenar durante o crescimento, melhor será o pico de massa óssea e menos provável a instalação de osteoporose aos 40 anos, fase que freqüentemente há maior perda óssea. A alimentação, também é defendida como fator primordial contribuindo para o armazenamento de cálcio (Papler, 2002).

Os resultados do tratamento da osteoporose estabelecida costumam ser precários, e por essa razão, nos últimos anos, maior ênfase tem sido dada às medidas profiláticas procurando-se evitar que as pacientes atinjam o estado de osteoporose com as fraturas subseqüentes (Fernandes, 1999).

Grande parte do conhecimento acumulado sobre osteoporose é derivado de investigações experimentais.

As mudanças biológicas que ocorrem em ratas ooforectomizadas são muito semelhantes às ocorridas em mulheres osteoporóticas e por esta razão isso tem sido amplamente aceito para o estudo das repercussões da deficiência do hormônio ovariano sobre o sistema esquelético e análise das respostas ósseas aos novos tratamentos (Paz, 1997; Castro, 2000).

Há cerca de 30 anos, Saville (1969) um dos primeiros autores a utilizar modelos animais no estudo da osteoporose analisou ratas ooforectomizadas, com vinte e um dias de vida, e observou menor quantidade de cálcio por unidade de volume no osso em relação aos controles. Os modelos animais para osteoporose dividem-se em dois grupos: grupo com predomínio de reabsorção óssea, caracterizados pela presença de altos níveis de remodelação e perda óssea acelerada, ideal para o estudo das células responsáveis pela reabsorção óssea e efeito de drogas, sendo restrição de cálcio, imobilização, utilização de hormônios (tireoidiano e parathormônio), orquiectomia e ooforectomia que é amplamente usada, principalmente em ratas, para investigação da perda óssea trabecular, em consequência da deficiência estrogênica. As áreas ricas em osso trabecular como, vértebras e metáfises dos ossos longos como, tíbia e fêmur, sofrem maior perda óssea e essa perda depende da idade em que a ooforectomia é realizada, sendo mais intensa em animais jovens que em animais idosos. Nota-se, também, alterações de peso, crescimento linear e diâmetro periostal, nesse modelo. Ratas de seis meses a um ano de idade tem o desenvolvimento ósseo estável, mas levam longo tempo até atingirem essas idades, somado ao tempo da ooforectomia e tempo de instalação de efeitos ósseos. Portanto, ratos de três meses são denominados ratos maduros, ou reprodutivamente maduros, e capazes de responderem à deficiência de hormônios sexuais. Há, também, grupo com predomínio de déficit de formação: caracterizado por baixa remodelação óssea em função do menor nível de formação óssea. São exemplos desses modelos, ratos senis, SAM (sub-raça de camundongos de acelerada senescência), administração de glicocorticóides e imobilização. Os modelos animais confirmam esta utilidade, pela facilidade de exposição a fatores de riscos relacionados à doença humana, e na osteoporose fatores como idade, menopausa, nutrição, inatividade e hormônios podem ser induzidos experimentalmente, isolados ou associados, mimetizando situações reais a que o ser humano se expõe (Paz, 1997).

Uyeno et al. (1965), foi um dos primeiros autores a estudar ratos e exercícios aquáticos, por meio de estudo sobre os efeitos da privação de alimento em ratos nadadores até a exaustão.

Os efeitos do exercício no osso, usando modelo animal, como ratas intactas e ovariectomizadas, foram analisados para a análise da importância da atividade na manutenção da massa óssea. Pesquisa histomorfométrica, realizada nos ossos de ratas intactas e ovariectomizadas, com nove meses de idade, e subdivididas em grupo sedentário e, grupo que praticava exercícios, seguindo um programa de corrida, com velocidade de 21 mm/min, 1 hora/dia, cinco dias/semana, num período de três meses mostrou que, a reabsorção óssea foi mais elevada em ratas sedentárias ovariectomizadas, porém, houve redução do perímetro ósseo e número de osteoclastos e aumento no padrão de deposição mineral e no padrão de formação óssea. Esses eventos foram associados ao aumento do osso trabecular, nas ratas ovariectomizadas que fizeram exercícios, em relação as sedentárias. Nas ratas controle notou-se que a massa óssea trabecular, o número de osteoclastos, e o perímetro ósseo não foram afetados com a prática de exercícios. A resistência óssea foi maior nas ratas do grupo exercício que nas sedentárias. Esse estudo concluiu que o nível estrogênico e os exercícios melhoraram a qualidade do osso, mantendo a conservação e o equilíbrio entre os processos de reabsorção e formação óssea (Barengolts, 1994).

Melton et al. (2004), realizaram estudo com o objetivo de testar se o exercício na água previne a perda da densidade óssea associada a ovariectomia tendo como base que a inatividade é um dos principais fatores de risco controlável e sendo o exercício possível tratamento profilático para a osteoporose. Foram usadas 24 ratas Sprague-Dawley com idade de oito a nove meses, sendo doze ovariectomizadas e doze placebo e a metade de cada grupo se manteve sedentário e a outra metade se exercitou na água. Para os autores, o nado livre (sem-carga), para, ratos equivale ao caminhar na água para os humanos. Afirmaram que as duas maiores vantagens do exercício na água são: eliminar o risco de quedas e diminuir as dores, principalmente nos pés das pessoas idosas, submetidas a programas de caminhadas. Concluíram que, essa forma de exercício pode ser benéfica para a manutenção da densidade óssea na deficiência hormonal pós-menopausa em mulheres, especialmente em idosos que não tem habilidade para praticar atividades com peso.

Para investigar os efeitos no osso de exercícios com peso e natação, foi realizada pesquisa em que ratos submetidos a programa de exercícios, divididos em grupo controle, grupo corrida e grupo natação. Constatou-se que a densidade mineral óssea, na parte proximal da tíbia dos ratos corredores foi significativamente maior que nos animais nadadores. O peso femoral úmido dos dois grupos de exercícios foi significativamente maior que o controle. As propriedades mecânicas da tíbia e fêmur, medidas pelo teste de três pontos, dos ratos que praticaram exercícios foi significativamente maior que o grupo controle conclui-se que diferentes exercícios podem beneficiar as propriedades mecânicas do osso de diversas formas, mas que os efeitos específicos da natação requerem mais estudos (Huang, 2003).

Pugliesi et al. (2005), realizaram estudos com ratos que praticaram natação a fim de estudar a resistência do ligamento cruzado anterior. Foram utilizados 96 ratos Wistar, divididos em quatro grupos de 24 animais, sendo dois grupos controle e dois que praticaram natação, por tempo de quatro e oito semanas em água aquecida entre 33 e 35°C, com profundidade de 1 metro, 1/hora/dia, 5/dias/semana. Após os períodos pré-definidos foram sacrificados, os membros posteriores bilaterais dissecados até a obtenção do espécime estudado para a realização dos ensaios mecânicos de tração. Concluíram que a natação praticada nos períodos de quatro e oito semanas não influenciou, de forma significativa, aumento da resistência do ligamento, apesar de haver tendência a esse aumento.

Estudo experimental de propriedades mecânicas em ratas, analisaram alterações relacionadas à maturação e à senilidade. A influência da maturação e da idade em vários órgãos foram estudados em animais com quatro e oito semanas e, quatro, doze e vinte e quatro meses de idade. Foram consideradas jovens até quatro meses, adultas entre quatro e doze meses e senis com vinte e quatro meses. Os resultados indicaram aumento da resistência durante a maturação e diminuição durante o envelhecimento (Vogel, 1980).

Apesar dos progressos e refinamentos alcançados pela medicina quanto ao diagnóstico e terapêutica, a osteoporose persiste desafiando médicos,

cientistas e pacientes, associada a altas taxas de morbidade, gerando custo de tratamento elevado e conseqüentemente aumento da mortalidade.

A osteoporose é um problema de saúde pública em função do aumento da expectativa de vida no Brasil e no mundo. Com o aumento da população idosa haverá aumento na incidência da doença, alto índice de morbidade e mortalidade. Busca-se, então, alternativas de melhora do diagnóstico, tratamento e prevenção, como programas de exercícios ideais e alimentação balanceada. Ainda são poucas e incertas as comprovações científicas que atestem o papel do exercício físico na prevenção e tratamento da osteoporose. Parece justificado, portanto, o delineamento de investigações que estudem o eventual efeito do exercício físico em situações de privação hormonal.

OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi analisar por meio de estudo clínico, biomecânico e histológico os efeitos dos exercícios aquáticos, no tecido ósseo de ratas, após menopausa induzida por ooforectomia bilateral.

* Na elaboração deste estudo foram observadas as seguintes condições:

1 - Volpato ESN, Silva RC, Pizzani, L. Manual de apresentação de trabalho científico: tese, dissertação, monografia. Botucatu: Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação, Unesp, Campus de Botucatu, 2003 [cited 2004 Set 03]. Available from: www.biblioteca.btu.unesp.br.

2 - Projeto aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp sob Protocolo nº 289/2002.

3 - Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental “WILLIAM SAAD HOSSNE”, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu (Unesp).

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 – Animais de Experimentação

Foram utilizadas 64 ratas fêmeas, *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, virgens, clinicamente sadias, procedentes do Biotério Central do Campus de Botucatu (UNESP). Os animais foram recebidos com 45 dias de vida, examinados clinicamente e alojados em gaiolas com ração e água *ad libitum* até completarem quatro meses de idade.

2.2 – Delineamento

Os animais foram sorteados e divididos aleatoriamente em oito grupos de acordo com o procedimento cirúrgico (placebo ou ooforectomia); tipo de atividade (sedentário e exercício); tempo de sacrifício (três e seis meses).

2.3 – Fases de Experimento

O experimento foi dividido de acordo com o delineamento em fases:

1^a. Fase: recepção e adaptação

2^a. Fase: ooforectomia ou cirurgia placebo

3^a. Fase: protocolo de exercício ou sedentarismo

4^a. Fase: sacrifício e coleta das peças anatômicas

2.4 – Variáveis Estudadas

2.4.1 – Estudo Clínico: Peso Corpóreo

2.4.2 – Estudo Biomecânico: Propriedades Mecânicas (carga máxima, limite de elasticidade e coeficiente de rigidez).

2.4.3 – Estudo Histológico: Histomorfometria (área cortical e área trabecular)

2.5 – Seqüência dos Tempos Experimentais

2.5.1 – Seqüência dos tempos experimentais na primeira fase (recepção e adaptação)

2.5.1.1 – Exame Clínico Geral

2.5.1.2 – Identificação

2.5.1.3 – Pesagem

2.5.1.4 – Sorteio (definição dos grupos)

2.5.1.5 – Alojamento

2.5.2 – Seqüência dos tempos experimentais na segunda fase (ooforectomia ou cirurgia placebo)

2.5.2.1 – Exame clínico geral

2.5.2.2 – Identificação

2.5.2.3 – Pesagem

2.5.2.4 – Procedimento cirúrgico: ooforectomia ou cirurgia placebo

2.5.3 – Seqüência dos tempos experimentais na terceira fase (protocolo de exercício aquático)

2.5.3.1 – Pesagem

2.5.3.2 – Fase de adaptação

2.5.3.3 – Natação

2.5.4 – Seqüência dos tempos experimentais na quarta fase (sacrifício e coleta das peças anatômicas)

2.5.4.1 – Pesagem

2.5.4.2 – Identificação

2.5.4.3 – Sacrifício

2.5.4.4 – Obtenção das peças anatômicas

2.6 – Técnicas utilizadas

2.6.1 – Manutenção

Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno com tampa de grade de metal, contendo cinco animais cada, em local seco e arejado, limpas diariamente, com temperatura controlada entre 20-24^oC e ciclo dia/noite de 12 horas. Receberam ração e água *ad libitum*.

2.6.2 – Constituição dos grupos

Quadro 1 – Representação esquemática do delineamento (grupo ooforectomia)

Grupo	A1	A2	A3	A4
n	8 animais	8 animais	8 animais	8 animais
Tratamento	Ooforectomia	Ooforectomia	Ooforectomia	Ooforectomia
Atividade física	exercício	sedentário	exercício	sedentário
Tempo pós-operatório	3 meses	3 meses	6 meses	6 meses
Idade	7 meses	7 meses	10 meses	10 meses

Quadro 2 – Representação esquemática do delineamento (grupo placebo)

Grupo	B1	B2	B3	B4
n	8 animais	8 animais	8 animais	8 animais
Tratamento	Placebo	Placebo	Placebo	Placebo
Atividade física	exercício	sedentário	exercício	sedentário
Tempo pós-operatório	3 meses	3 meses	6 meses	6 meses
Idade	7 meses	7 meses	10 meses	10 meses

2.6.3 – Identificação

A identificação foi realizada por meio de numeração, marcada na região auricular.

2.6.4 – Anestesia

As ratas foram anestesiadas com pentobarbital sódico 3% na dose de 30 mg/kg de peso, por via intraperitoneal.

2.6.5 – Procedimento Cirúrgico

2.6.5.1 – Tricotomia

Realizada a tricotomia na região dorsal, bilateralmente, abaixo da última costela.

2.6.5.2 – Posicionamento

O animal foi posicionado em mesa cirúrgica, em decúbito lateral, para visualização e palpação da última costela.

2.6.5.3 – Assepsia e antissepsia

A área tricotomizada foi limpa com água e sabão, esterilizada com álcool iodado 5%.

2.6.5.4 – Técnica Operatória

2.6.5.4.1 – Ooforectomia

Foi realizada incisão transversal, de aproximadamente 1,5 cm de comprimento, primeiramente na pele, na região entre a última costela e a articulação coxo-femural. Com o auxílio de pinça, realizou-se a incisão e dissecação do plano muscular e foi exposta a cavidade peritoneal. Por divulsão, o tecido muscular foi dividido, permitindo acesso ao ovário envolto em tecido adiposo; realizada ligadura do ovário com fio de algodão 3.0 e após procedeu-se então à secção distal à ligadura. Para sutura da musculatura e da pele, utilizou-se fio de nylon 4.0 e repetiu-se o mesmo procedimento no lado contra-lateral para retirada do outro ovário.

2.6.5.4.2 – Cirurgia Placebo

Os animais foram submetidos ao mesmo procedimento já descrito acima no grupo ooforectomia, com exceção do tempo cirúrgico de ligadura e secção dos ovários.

2.6.6 – Cuidados Pós-Operatório

Após a realização do procedimento, as ratas foram mantidas com oferta de ração padrão e água *ad libitum* e com ciclo dia/noite. Os pontos foram retirados após uma semana de pós-operatório.

2.6.7 – Protocolo de Exercício Aquático

Realizado em tanques plásticos, com água na temperatura de 35°C, porém com uma adaptação sugerida para 32°C, para evitar fadiga muscular, sendo ao final do período de exercício a temperatura aferida, em torno de 30°C. Profundidade de 7cm, aumentando progressivamente até 60 cm de água, com duração de 15 minutos à uma hora, e freqüência de cinco dias na semana, com descanso de dois dias.

Após uma semana de repouso pós-operatório, a aplicação do protocolo foi iniciada por meio de adaptação em quatro semanas, sendo:

- Primeira semana; adaptação: os animais foram apenas colocados em 7 cm de água por 15 minutos;
- Segunda semana: Os animais foram mantidos em 30 cm de água por 30 minutos;
- Terceira semana: 45 cm de água por 45 minutos;
- Quarta semana: 60 cm de água por 60 minutos.

2.6.8 – Protocolo do Grupo Sedentário

As ratas desse grupo permaneceram nas gaiolas, durante todo o experimento.

2.6.9 – Estudo Clínico

2.6.9.1 – Peso Corpóreo

Foram medidas as massas corporais no início do experimento, mensalmente e no sacrifício com balança analógica.

2.6.10 – Sacrifício

Após o tempo pós-operatório pré-fixado para cada grupo, as ratas foram sacrificadas, com dose letal de 50 mg, de pentobarbital sódico 3%, por kg de peso corpóreo, via intraperitoneal, vinte e quatro horas após o último dia de natação.

2.6.11 – Obtenção e preparo das peças anatômicas

Após o sacrifício, a tíbia direita de cada animal foi desarticulada na articulação proximal femoro-tibial (joelho) e na articulação tíbio-társica (tornozelo). Em seguida, através de ampla incisão longitudinalmente, removeu-se a tíbia da

fíbula (distalmente) e foram retiradas todas as partes moles (músculos, tendões e ligamentos), restando apenas o tecido ósseo. O procedimento foi realizado bilateralmente.

Em seguida, as peças foram embaladas em papel alumínio, identificadas e, as tíbias direitas, foram congeladas à temperatura de -20°C em refrigerador doméstico. Foram retiradas duas horas antes do ensaio biomecânico e mantidas em compressas embebidas em soro fisiológico.

As tíbias esquerdas foram imediatamente fixadas em solução de formalina tamponada 10% por 48 horas.

2.6.12 – Estudo Biomecânico

Para determinação das propriedades mecânicas na tíbia direita, foi realizado ensaio de flexão em três pontos, utilizando a Máquina Universal de Ensaio Mecânico EMIC*, modelo DL 10.000. A precisão do sistema é de $(0,018 + F/3700)$ KN, apurada dentro das especificações das normas ABTN, NBR 6156 e NBR 6674; a aferição é realizada periodicamente pelo fabricante.

A Máquina Universal opera em conjunto com microcomputador sob o sistema operacional *Windows 2000*, sendo utilizado o programa de informática Mtest versão 1.00. Este programa permite a realização de ensaios segundo método pré-definido pelo próprio usuário que escolhe parâmetros e unidades.

As tíbias direitas foram posicionadas, individualmente, com apoios nas extremidades e carga perpendicular foi aplicada sobre o corpo de prova, com a distância entre os dois apoios de suporte, padronizada em dois terços do comprimento do corpo de prova. O cutelo de aplicação de carga foi posicionado em ponto equidistante às extremidades, na face côncava do corpo de prova. Após o ensaio, o programa forneceu a carga máxima, no momento da ruptura, e o diagrama carga-deformação.

*Emic – modelo DL 10.000

2.6.12.1 – Parâmetros estudados

Propriedades Mecânicas:

- 1) Carga Máxima (N) definida como a carga máxima suportada pelo corpo de prova até a ruptura;
- 2) Limite de Elasticidade (N): carga calculada no limite de deformação que o corpo de prova suporta antes da deformação plástica, sendo o limite.
- 3) Coeficiente de Rigidez (N/mm) definido como a relação entre a carga e deformação no trecho reto da curva até o limite de elasticidade, sendo, portanto indicativo da estabilidade da estrutura.

2.6.13 – Estudo Histológico

2.6.13.1 – Preparação das peças

A preparação das peças anatômicas para estudo histológico obedeceu à seqüência abaixo:

- Fixação (formalina 10%);
- Descalcificação (EDTA) formalina tamponada 10% e ácido acético com trocas semanais;
- Lavagem em água corrente por 48 horas;
- Desidratação em série crescente de álcool etílico e xilol;
- Trimagem do material, deixando as superfícies planas;
- Secções longitudinais, selecionando a epífise proximal da tíbia (análise da área trabecular) e corte transversal na diáfise da tíbia (análise da área cortical).

2.6.13.2 – Preparação das lâminas

A preparação das lâminas para o estudo histológico obedeceu à seqüência abaixo:

- Inclusão em paraplast
- Cortes histológicos de 6-8µm (micrômetros de espessura), realizados em micrótomo rotativo automático;
- Montagem da lâmina;
- Secagem em estufa a 60°C por 12 horas;
- Coloração pela Hematoxilina-Eosina.

2.6.13.3 – Parâmetros estudados (Histomorfometria)

Os cortes histológicos foram utilizados para a análise histomorfométrica, sendo as lâminas colocadas em microscópio* acoplado em monitor de vídeo, que envia imagem digital ao computador dotado do programa de análise de imagens**.

1) Área Cortical (mm²)

Para a obtenção da área cortical, foi utilizada a objetiva de 20x. Nesta medição, a lâmina foi posicionada na lupa, em função do tamanho do corte. Após a obtenção da imagem, foi realizada a delimitação manual dos perímetros externo e interno do corte. A área cortical foi obtida pela subtração da área externa menos a área interna e expressa em milímetros quadrados.

* Laica®

** Image Pro plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

2) Área Trabecular (%)

Para análise da área trabecular, foi utilizada a objetiva de 5x. As lâminas foram colocadas em microscópio acoplado a programa de análise de imagens e visualizadas em monitor de vídeo; A área foi calculada em dois campos, após delimitação manual do perímetro das trabéculas. O cálculo da área total foi realizada (porcentagem) automaticamente pelo programa.

2.7 – Método Estatístico

O procedimento estatístico constou da técnica de análise de variância (paramétrica ou não-paramétrica) para o esquema fatorial com três fatores 2 x 2 x 2 (dois grupos, dois tipos de atividade e dois momentos de sacrifício) no modelo inteiramente casualizado complementada com os respectivos testes de comparações múltiplas. A opção paramétrica aconteceu quando a variável tinha comportamento caussiano, caso contrário, indicou-se a opção não-paramétrica (NORMAN & STREINER, 1994).

Os resultados foram apresentados em tabelas contendo medida descritiva de tendência central (média) e variabilidade (desvio-padrão), nos parâmetros clínicos e biomecânicos e, mediana e semi-amplitude total para histomorfometria. Os dados foram acompanhados de letras minúsculas, maiúsculas e gregas para a indicação da significância biológica das comparações. Todas as discussões foram realizadas no nível de 5% de significância. Para leitura das letras deve-se proceder da seguinte maneira:

1 – Para indicação das significâncias do efeito do tratamento, comparação entre os grupos ooforectomizados e placebos, utilizou-se letras minúsculas ao lado das medidas descritivas dos grupos. Duas medidas seguidas de uma mesma letra não diferem no nível de 5% de significância.

2 – Para indicação das significâncias do efeito do tempo, comparação dos momentos de sacrifício, grupos sacrificados após três meses e seis meses após a cirurgia, utilizou-se letras maiúsculas sob as medidas descritivas dos

momentos. Duas medidas seguidas de uma mesma letra não diferem no nível de 5% de significância.

3 – Para indicação das significâncias de tipo de atividade física, comparação dos grupos que praticaram exercício e dos grupos que se mantiveram sedentários, utilizou-se letras gregas sob as medidas descritivas dos grupos. Duas medidas seguidas de, pelo menos, uma mesma letra não diferem no nível de 5% de significância.

2.8 – Material e Método: Figuras

2.8.1 – Procedimento Cirúrgico



Figura 1 – Animal em decúbito lateral após anestesia e tricotomia.



Figura 2 – Aspecto do local e dimensão da incisão na pele.

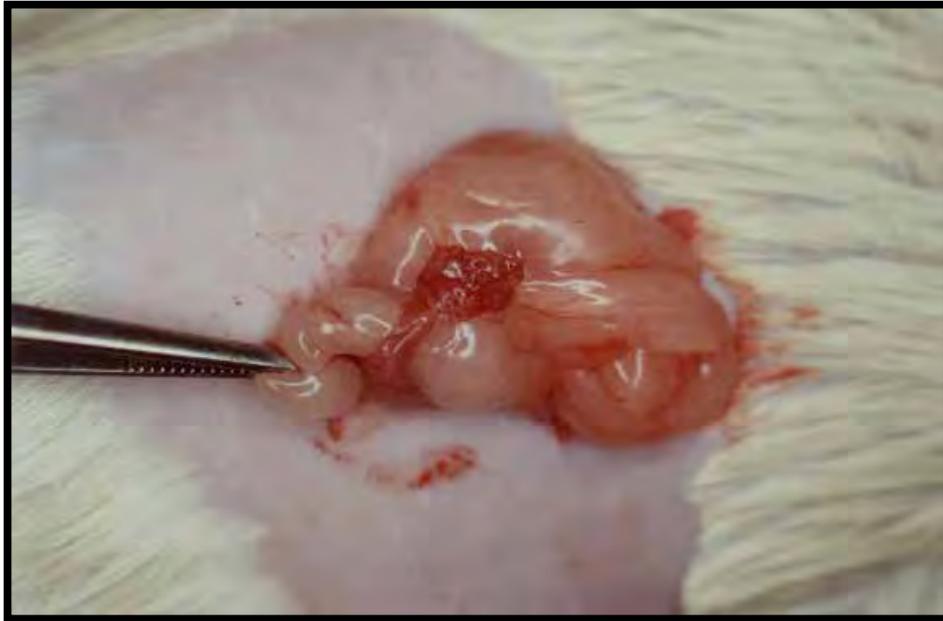


Figura 3 – Aspecto da exposição e identificação do ovário.



Figura 4 – Aspecto do pinçamento do ovário.



Figura 5 – Aspecto da ligadura do ovário com fio de algodão 3-0 antes da secção.



Figura 6 – Aspecto final do procedimento cirúrgico após sutura da pele.



Figura 7 – Exercício Aquático

2.8.2 – Ensaio Mecânico



Figura 8 – Aspecto da Máquina Universal de Ensaios Mecânicos com o corpo de prova montado para o Ensaio de Flexão em Três Pontos.



Figura 9 – Detalhe do corpo de prova montado em dois apoios e do cutelo de aplicação de carga locado em ponto eqüidistante às extremidades.

2.8.3 – Estudo histológico

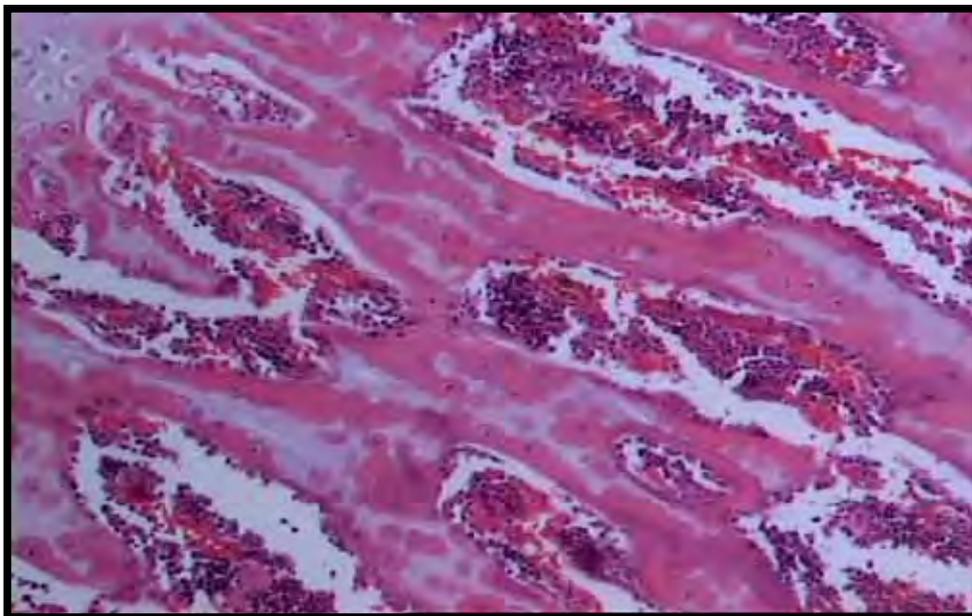


Figura 10 – Aspecto do corte histológico longitudinal da região proximal da tíbia (hematoxilina-eosina, 20X).

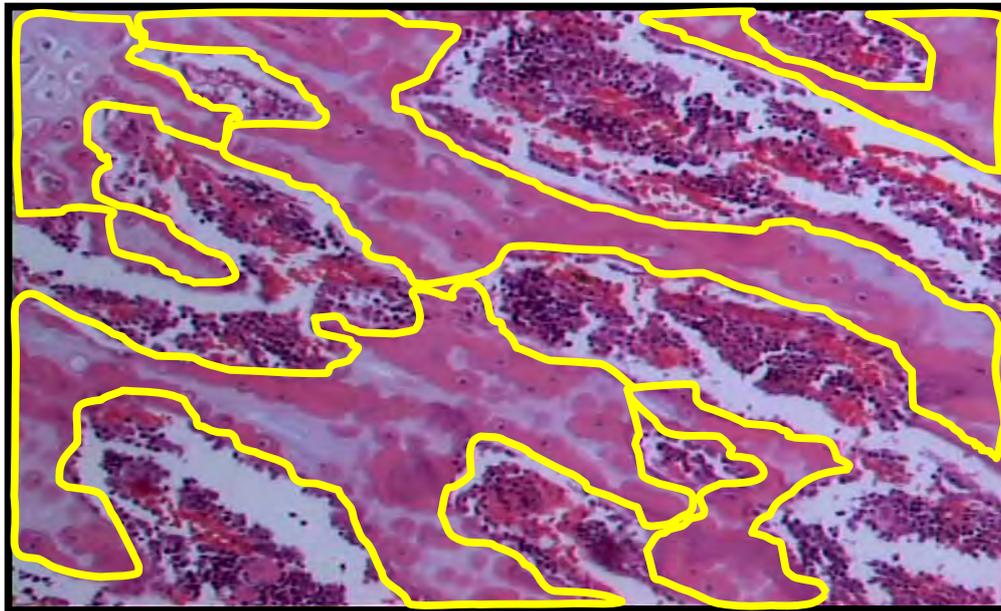


Figura 11 – Aspecto do corte histológico longitudinal da região proximal da tíbia (hematoxilina-eosina, 20X), após delimitação do perímetro das trabéculas para cálculo da área trabecular.



Figura 12 – Aspecto do corte histológico axial da diáfise da tíbia (hematoxilina-eosina, 20X), após delimitação manual dos perímetros externo e interno do corte para cálculo da área cortical.

3. RESULTADO

3.1 – Estudo Clínico

3.1.1 – Evolução

Ocorreu o óbito de um animal durante todo o experimento portador de dermatite por *Staphylococcus sp.* (enfermidade comum em animais de laboratório submetidos a estresse). Todos os outros animais, evoluíram com ausência de infecção no local da cirurgia. Não se observou qualquer alteração de comportamento nos animais submetidos a ooforectomia ou cirurgia placebo, exercitados ou não.

3.1.2 – Peso Corpóreo

A tabela 1 apresenta os valores da média e desvio padrão do Peso Corpóreo segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação, acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 2 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 13 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 1 – Média e desvio padrão do Peso Corpóreo (g), no sacrifício, segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	315 ± 28	a A α	317 ± 35	a A α
Ooforectomia		319 ± 34	a A α	349 ± 46	a A α
Placebo	6 meses	296 ± 31	a A α	336 ± 38	a A α
Ooforectomia		381 ± 54	b B α	371 ± 24	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 2 – Peso Corpóreo: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário	
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses < 6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia > Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo

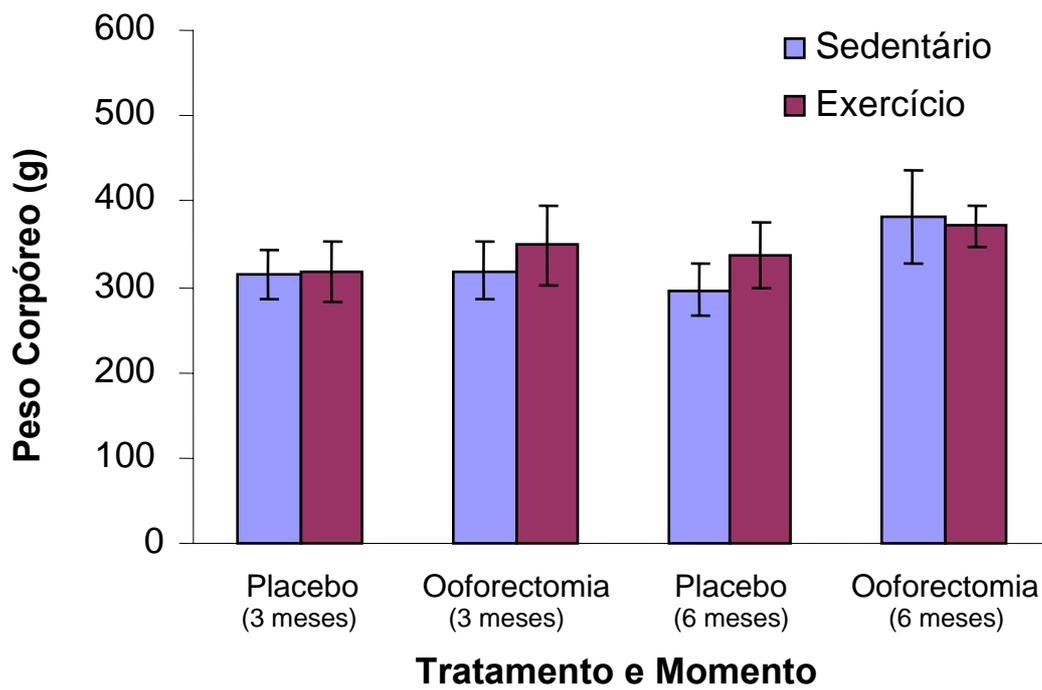


Figura 13 – Média e desvio padrão do Peso Corpóreo segundo grupo, tipo de atividade e momento de avaliação.

3.2 - Estudo Biomecânico

3.2.1 – Carga Máxima

A tabela 3 apresenta os valores da média e desvio padrão da variável Carga Máxima segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação, acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 4 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 14 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 3 – Média e desvio padrão da Carga Máxima (N), segundo momento grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	57 ± 8,5	a B α	60 ± 6,3	a A α
Ooforectomia		51 ± 4,0	a A α	61 ± 10,9	a A β
Placebo	6 meses	48 ± 3,9	a A α	66 ± 5,0	a A β
Ooforectomia		55 ± 9,5	b A α	59 ± 6,2	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 4 – Carga Máxima: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário	
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário < Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário < Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses > 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia > Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo

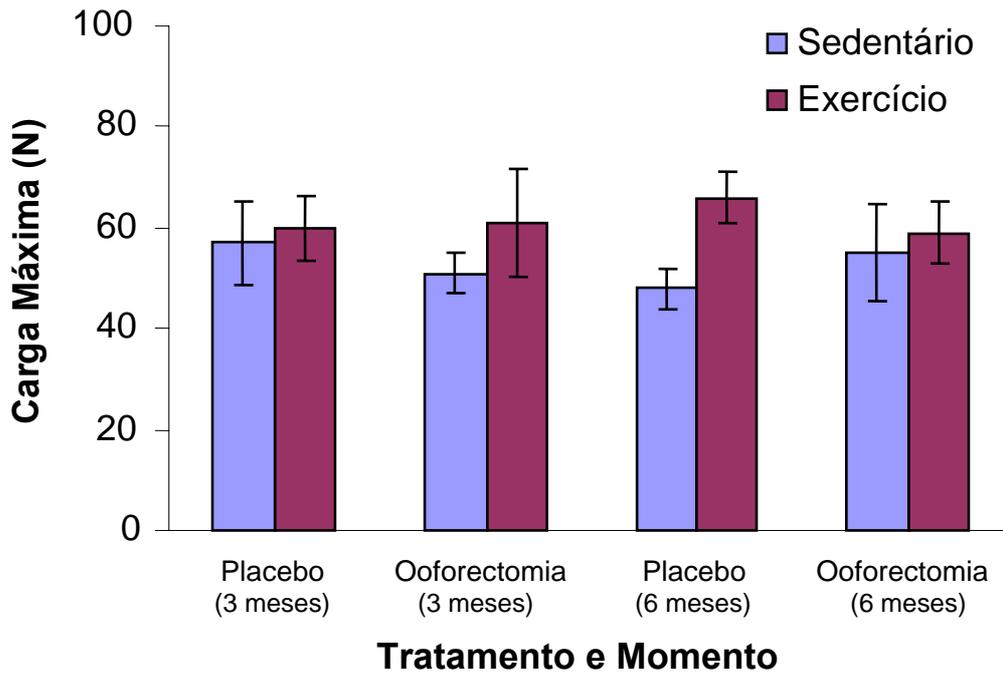


Figura 14 – Média e desvio padrão da Carga Máxima segundo grupo, tipo de atividade e momento de avaliação.

3.2.2 – Limite de Elasticidade

A tabela 5 apresenta os valores da média e desvio padrão da variável Limite de Elasticidade segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação, acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 6 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 15 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 5 – Média e desvio padrão do Limite de Elasticidade (N), segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	46 ± 5,5	a B α	46 ± 5,2	a A α
Ooforectomia		41 ± 5,0	a A α	48 ± 10,6	a A β
Placebo	6 meses	39 ± 3,8	a A α	51 ± 4,1	a A β
Ooforectomia		44 ± 7,2	a A α	49 ± 5,9	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 6 – Limite de Elasticidade: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário	
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário < Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário < Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses > 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo

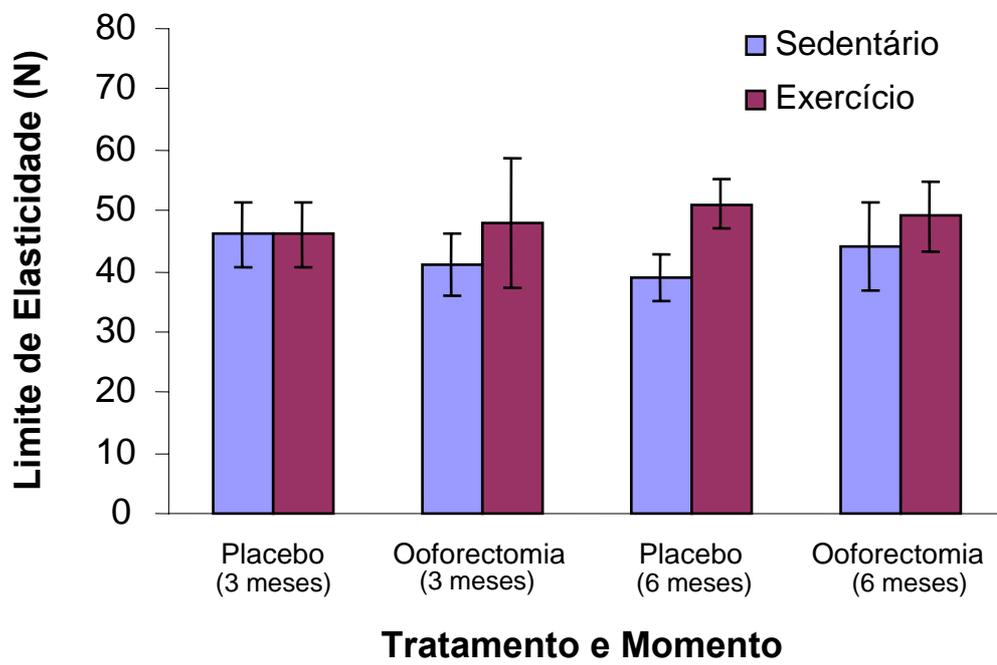


Figura 15 – Média e desvio padrão do Limite de Elasticidade segundo grupo, tipo de atividade e momento de avaliação.

3.2.3 – Coeficiente de Rigidez

A tabela 7 apresenta os valores da média e desvio padrão da variável Coeficiente de Rigidez segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação, acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 8 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 16 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 7 – Média e desvio padrão do Coeficiente de Rigidez (N/mm), segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	49 ± 7,5	a A α	50 ± 5,4	a A α
Ooforectomia		46 ± 4,8	a A α	53 ± 10,5	a A α
Placebo	6 meses	43 ± 5,1	a A α	54 ± 5,1	a A β
Ooforectomia		48 ± 11,8	a A α	51 ± 3,4	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 8 – Coeficiente de Rigidez: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário	
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário < Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo

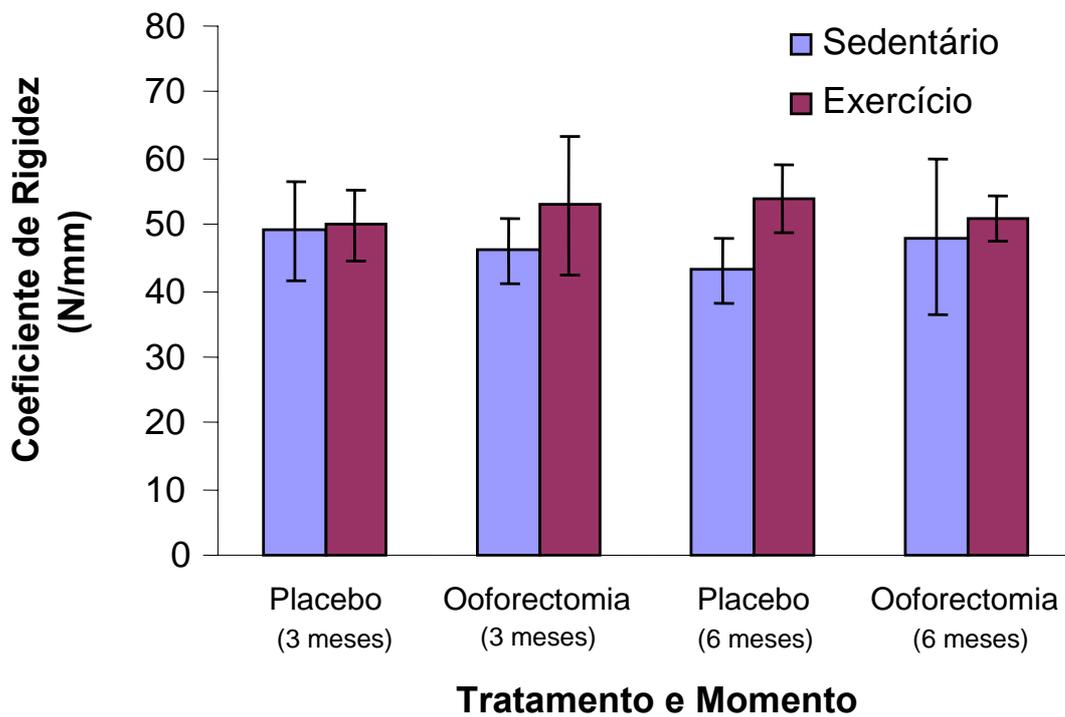


Figura 16 – Média e desvio padrão do Coeficiente de Rigidez segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação.

3.3 – Estudo Histológico

3.3.1 – Histomorfometria da Área Cortical

A tabela 9 apresenta os valores da mediana e semi-amplitude total da Área Cortical segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 10 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 17 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 9 – Mediana e semi-amplitude total da Área de Osso Cortical (mm²), segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	3,8 ± 0,6	a A α	3,5 ± 0,7	a A α
Ooforectomia		3,4 ± 0,6	a A α	3,8 ± 0,5	a A α
Placebo	6 meses	3,6 ± 0,4	a A α	4,2 ± 0,7	b B β
Ooforectomia		3,6 ± 0,3	a A α	3,3 ± 0,5	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 10 – Área Cortical: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário	
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário \cong Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário < Exercício
		Ooforectomia	Sedentário \cong Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses \cong 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses < 6 meses
		Exercício	3 meses \cong 6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia \cong Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia \cong Placebo
		Exercício	Ooforectomia < Placebo

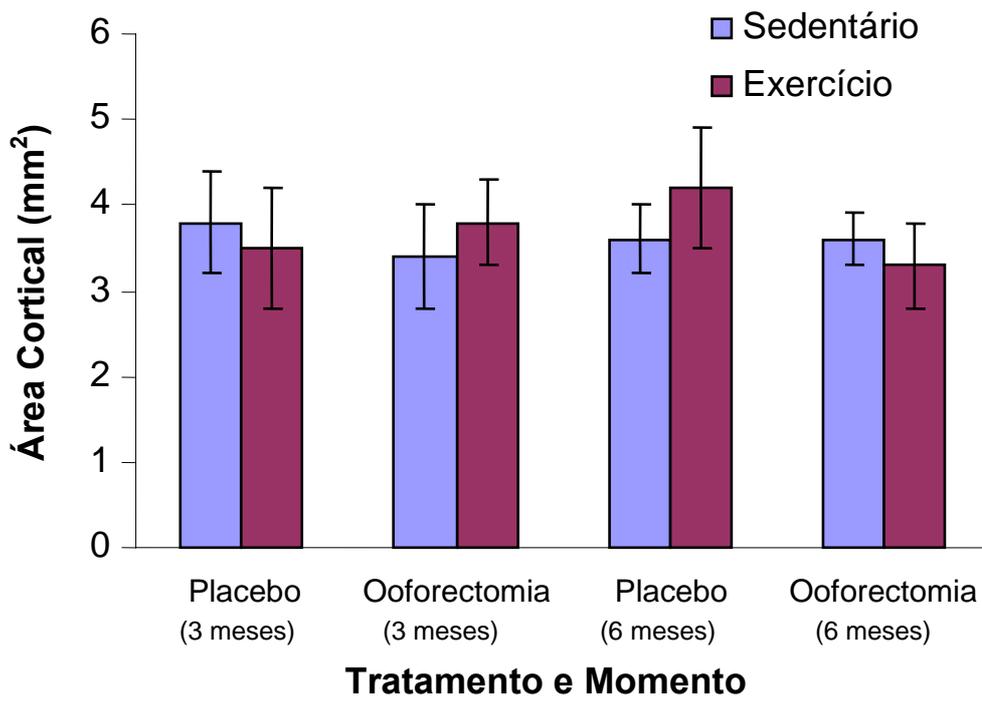


Figura 17 – Mediana e semi-amplitude total da Área Cortical segundo grupo, tipo de atividade e momento de avaliação.

3.3.2 – Porcentagem da Área Trabecular

A tabela 11 apresenta os valores da mediana e semi-amplitude total da porcentagem (%) da Área Trabecular segundo grupo, tipo de atividade física e momento de avaliação, acompanhados dos resultados da análise estatística.

A tabela 12 apresenta as hipóteses testadas e comentários. A figura 18 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 11 – Mediana e semi-amplitude total da porcentagem (%) da Área Trabecular, segundo grupo, tipo de atividade, momento de avaliação e análise estatística.

Grupo	Momento de Avaliação	Tipo de Atividade			
		Sedentário		Exercício	
Placebo	3 meses	38 ± 16	a A α	39 ± 9	a A α
Ooforectomia		31 ± 24,5	a A α	26 ± 20	a A α
Placebo	6 meses	21 ± 14,5	a A α	36 ± 17	b A α
Ooforectomia		24 ± 8,5	a A α	19 ± 6,5	a A α

Letras minúsculas: comparação de grupos (placebo x ooforectomia) fixados momento de avaliação e tipo de atividade;

Letras maiúsculas: comparação de momento de avaliação (3 meses x 6 meses) fixados grupo e tipo de atividade;

Letras gregas: comparação de tipo de atividade (sedentário x exercício) fixados momento de avaliação e grupo.

Tabela 12 – Porcentagem da Área Trabecular: Hipóteses testadas e comentários.

Hipótese Testada		Comentário		
Efeito do tipo de atividade fixados tempo e tratamento	3 meses	Placebo	Sedentário	Exercício
		Ooforectomia	Sedentário	Exercício
	6 meses	Placebo	Sedentário	Exercício
		Ooforectomia	Sedentário	Exercício
Efeito do tempo fixados tratamento e tipo de atividade	Placebo	Sedentário	3 meses	6 meses
		Exercício	3 meses	6 meses
	Ooforectomia	Sedentário	3 meses	6 meses
		Exercício	3 meses	6 meses
Efeito do tratamento fixados tempo e tipo de atividade	3 meses	Sedentário	Ooforectomia	Placebo
		Exercício	Ooforectomia	Placebo
	6 meses	Sedentário	Ooforectomia	Placebo
		Exercício	Ooforectomia	Placebo

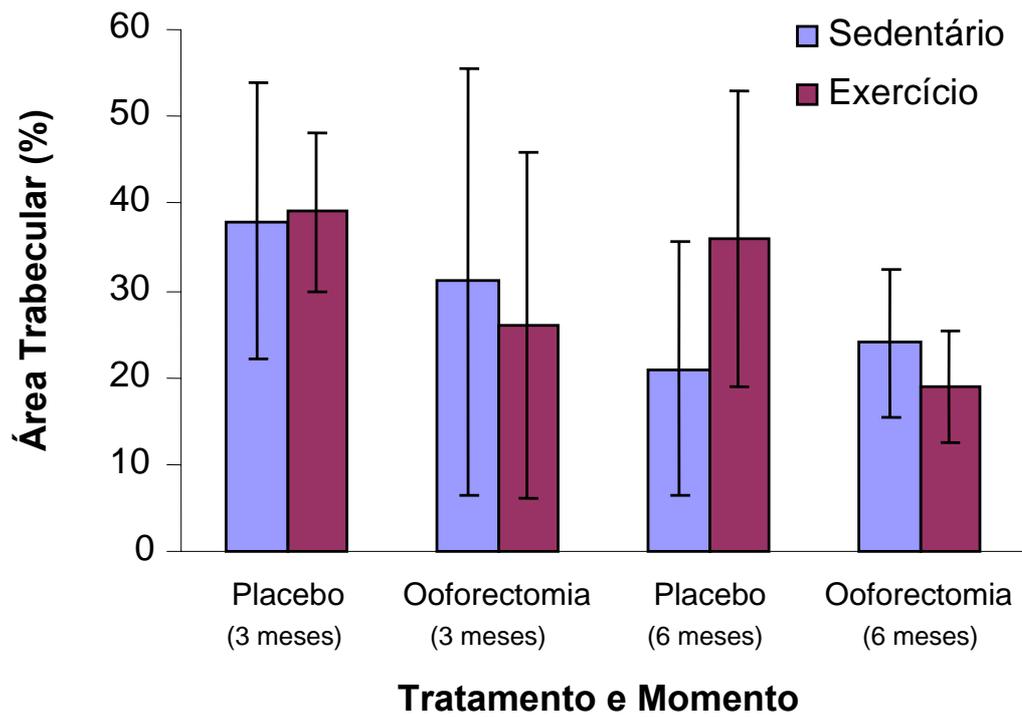


Figura 18 – Mediana e semi-amplitude total da Área Trabecular segundo grupo, tipo de atividade e momento de avaliação.

3.4 - Resultado: Figuras

3.4.1 - Estudo Biomecânico (diagrama carga-deformação)

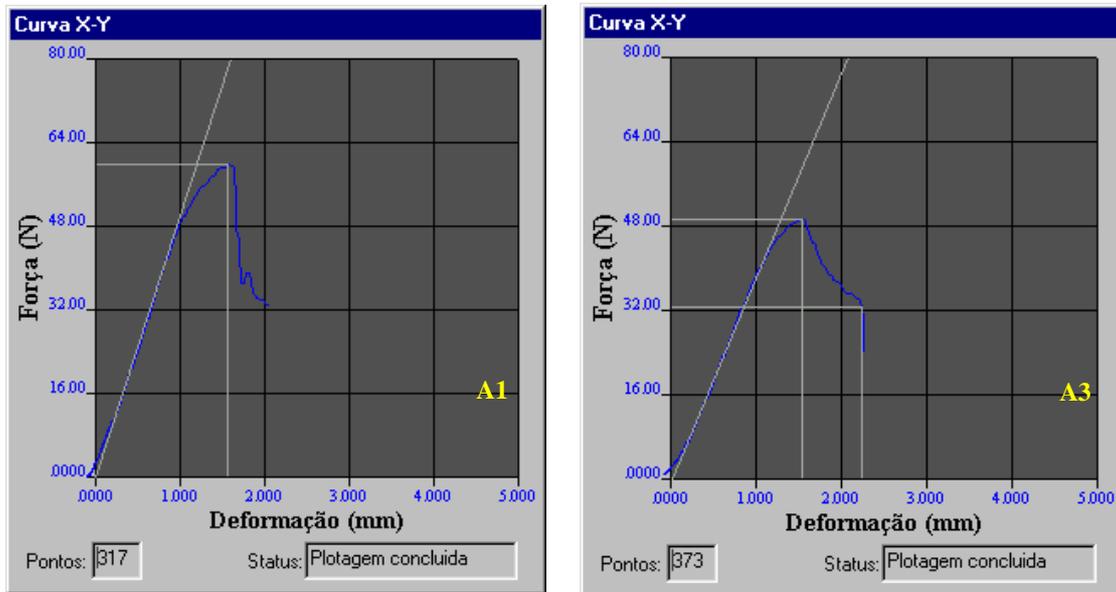


Figura 19 - Diagrama carga-deformação obtido durante ensaio de flexão em animal do grupo ooforectomia-exercício 3 meses (A1) e 6 meses (A3).

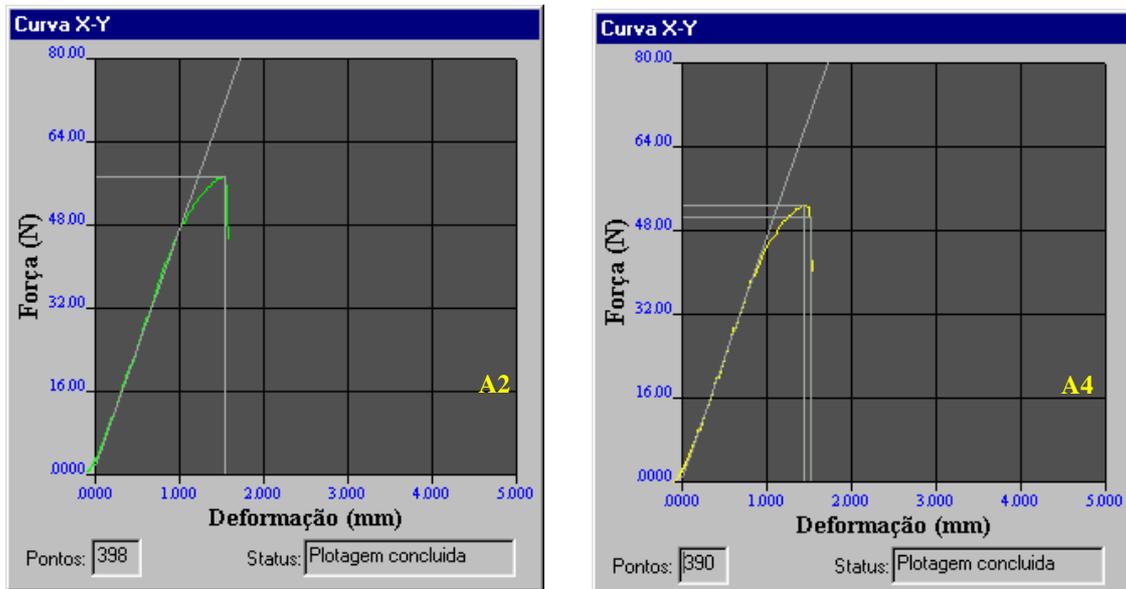


Figura 20 - Diagrama carga-deformação obtido durante ensaio de flexão em animal do grupo ooforectomia-sedentário 3 meses (A2) e 6 meses (A4).

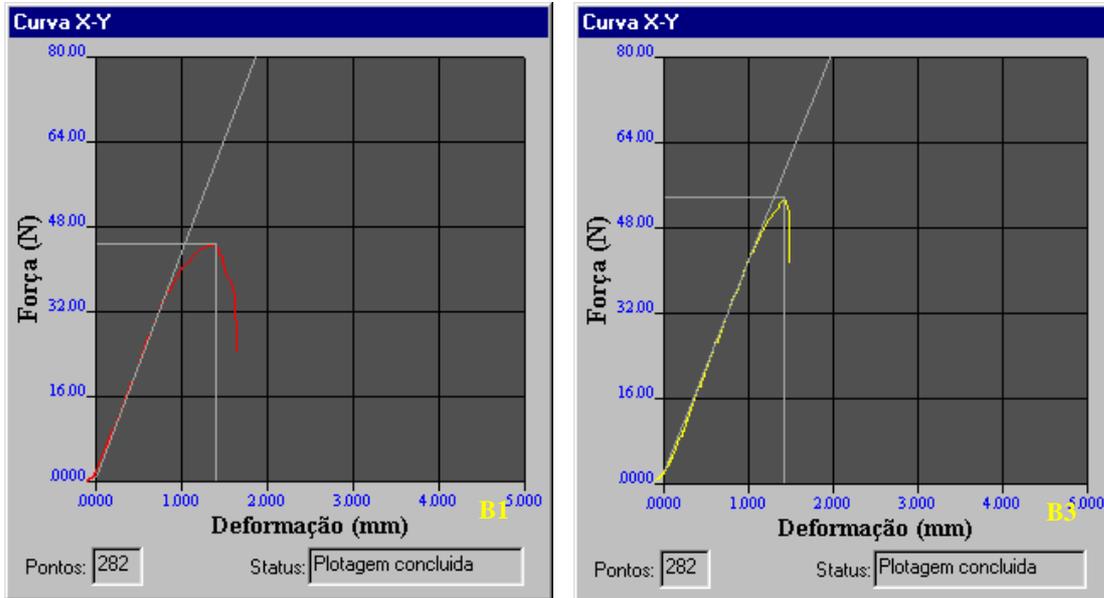


Figura 21 - Diagrama carga-deformação obtido durante ensaio de flexão em animal do grupo placebo-exercício 3 meses (B1) e 6 meses (B3).

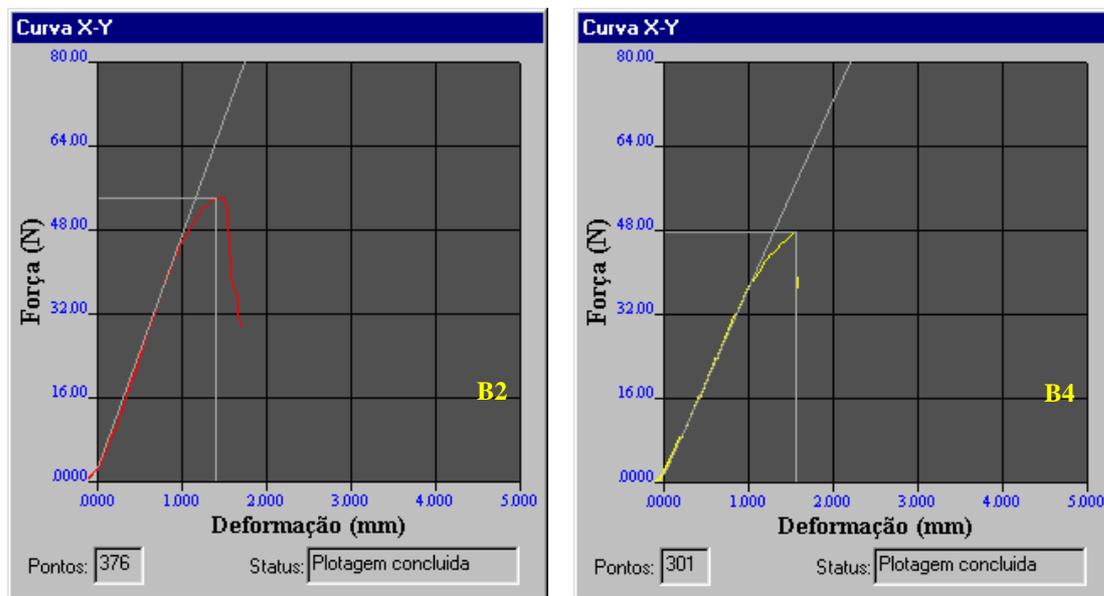


Figura 22 - Diagrama carga-deformação obtido durante ensaio de flexão em animal do grupo placebo-sedentário 3 meses (B2) e 6 meses (B4).

3.4.2 – Histomorfometria: Área Trabecular

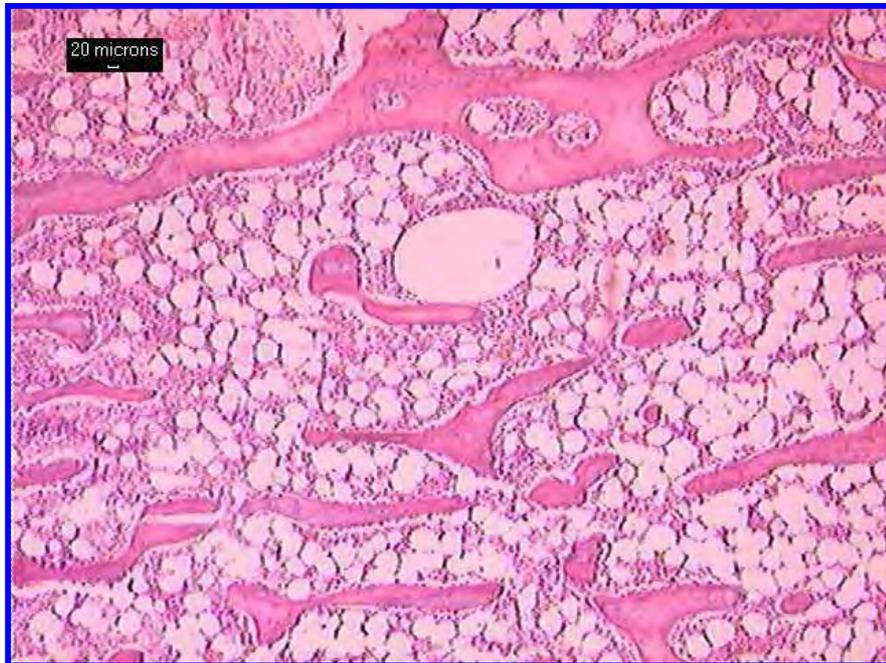


Figura 23 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-exercício 3 meses (HE, 5X).



Figura 24 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-sedentário, 3 meses (HE, 5X).

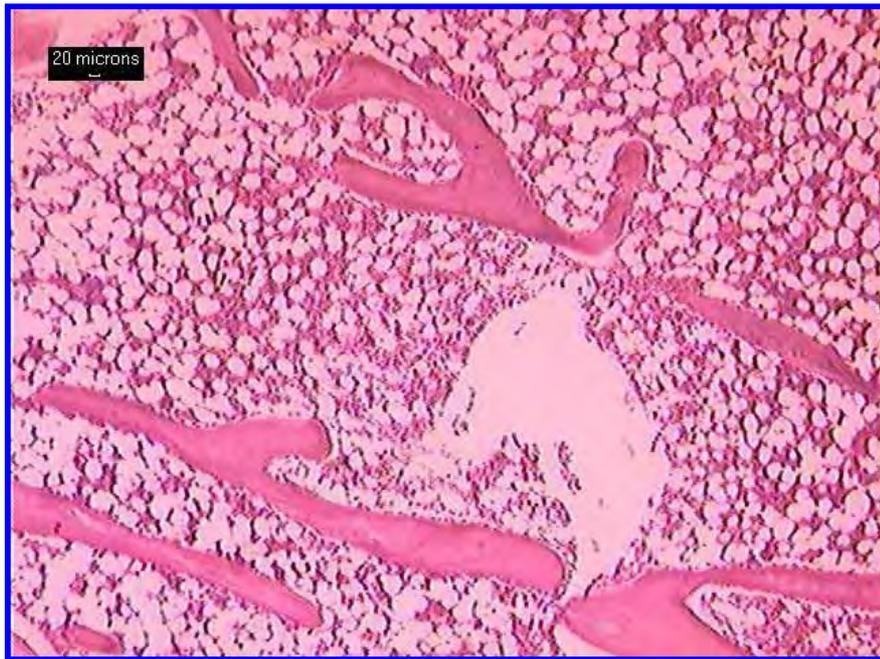


Figura 25 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-exercício, 6 meses (HE, 5X).

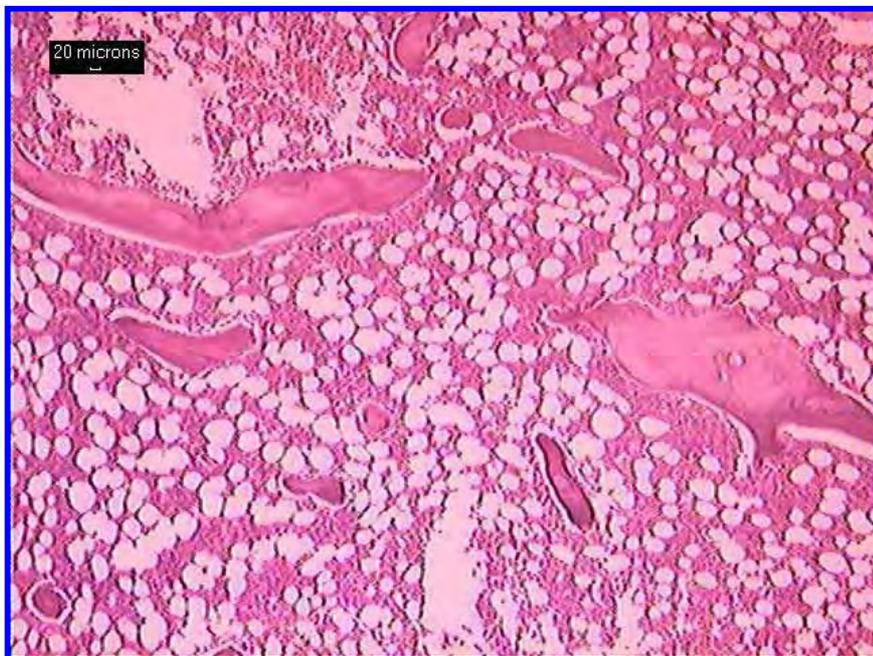


Figura 26 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-sedentário, 6 meses (HE, 5X).

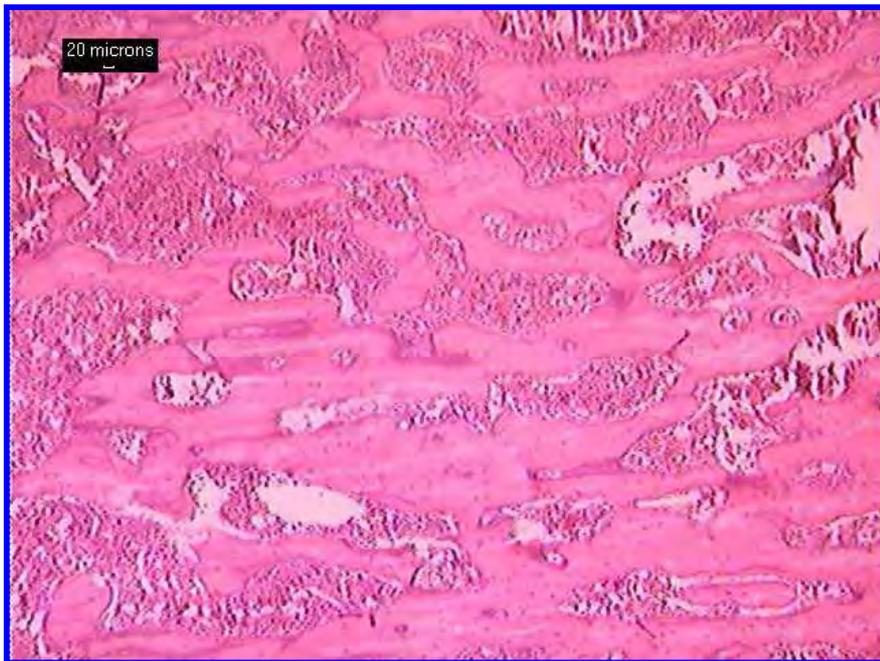


Figura 27 - Corte histológico de animal do grupo placebo-exercício, 3 meses (HE, 5X).

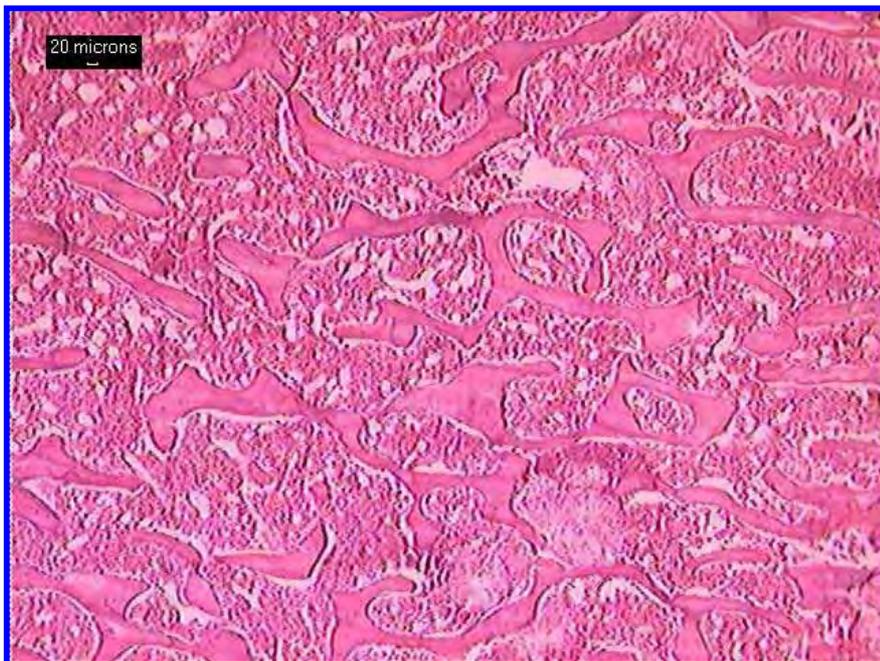


Figura 28 – Corte histológico de animal do grupo placebo-sedentário, 3 meses (HE, 5X).

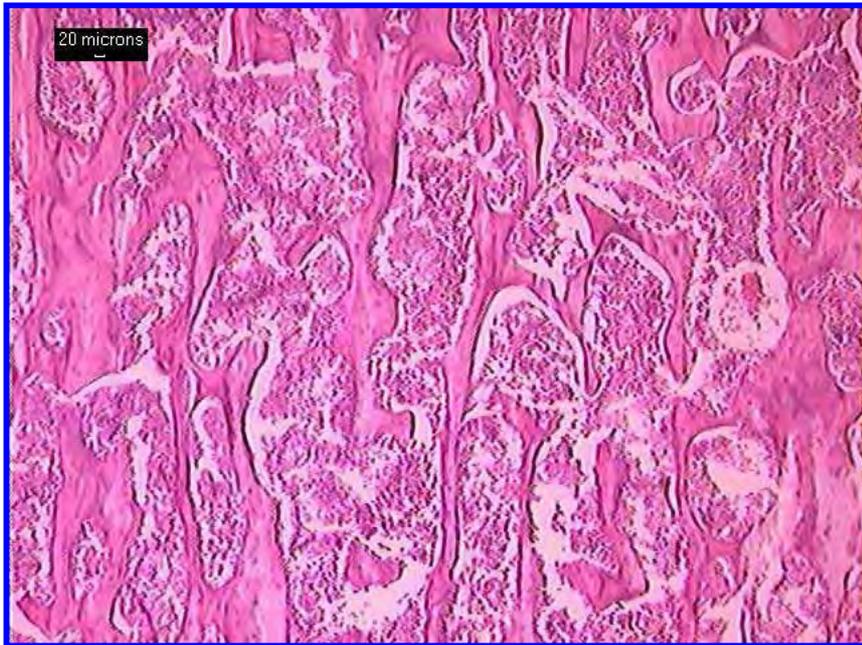


Figura 29 - Corte histológico de animal do grupo placebo-exercício, 6 meses (HE, 5X).

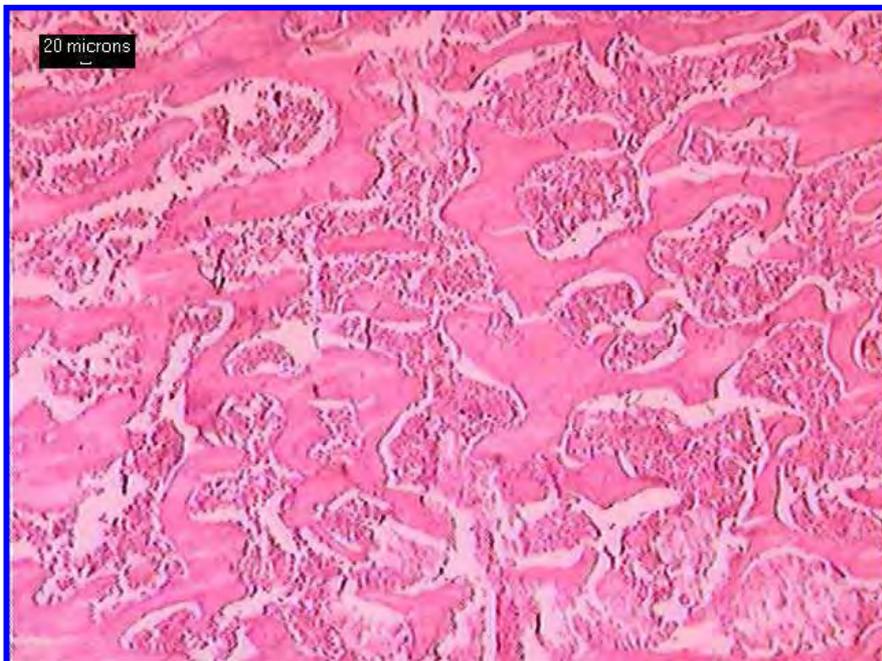


Figura 30 - Corte histológico de animal do grupo placebo-sedentário, 6 meses (HE, 5X).

3.4.3 – Histomorfometria – Área Cortical



Figura 31 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-exercício, 3 meses (HE, 20X).



Figura 32 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-sedentário, 3 meses (HE, 20X).



Figura 33 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-exercício, 6 meses (HE, 20X).



Figura 34 - Corte histológico de animal do grupo ooforectomia-sedentário, 6 meses (HE, 20X).



Figura 35 - Corte histológico de animal do grupo placebo-exercício, 3 meses (HE, 20X).



Figura 36 - Corte histológico de animal do grupo placebo-sedentário, 3 meses (HE, 20X).



Figura 37 - Corte histológico de animal do grupo placebo-exercício, 6 meses (HE, 20X).



Figura 38 - Corte histológico de animal do grupo placebo-sedentário, 6 meses (HE, 20X).

4. DISCUSSÃO

4.1 – Animal de Experimentação

Entre as razões da escolha do rato como animal de experimentação, neste trabalho, destaca-se a facilidade de obtenção, em biotério próprio, baixo custo de manutenção, facilidade para alojamento, alimentação e manuseio. Possui, também, sistema músculo-esquelético e endócrino semelhante ao dos seres humanos, passando por período de menopausa, segundo Barengolts et al. (1994), Paz et al. (1997), Huang et al. (2003).

Em estudos que tenham como objetivo observar todo o ciclo biológico, da infância à senilidade o rato apresenta ciclo de vida com tempo, bastante inferior ao do ser humano, permitindo esse tipo de delineamento (Vogel, 1980).

Um dos primeiros autores a utilizar animais para estudar osteoporose foi Saville (1969), que analisou ratas ooforectomizadas, com vinte e um dias de vida e observou menor quantidade de cálcio por unidade de volume do osso. Desde o final da década de 50, segundo Castro (2000), estudos comprovaram que o rato tem a capacidade de reabsorver tecido ósseo pela ação dos osteoclastos.

Como a maioria dos animais de experimentação, em modelos em que há sobrecarga óssea o rato, também, não exhibe fraturas associadas a traumas de baixo impacto, mas pode-se superar essa desvantagem, com a utilização de técnicas para avaliar o perfil mecânico (Paz et al., 1997). A análise dos ossos de ratos, torna a avaliação histológica quantitativa possível por meio do estudo das porções trabecular e cortical o que seria impossível em seres humanos vivos.

4.2 – Delineamento

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, placebo e ooforectomia, com o objetivo de se isolar o efeito da privação hormonal.

A escolha dos tempos de sacrifício para estudo das variáveis, três e seis meses, teve o objetivo de permitir a caracterização das eventuais alterações

ao longo de parte do ciclo de vida, sem esbarrar no envelhecimento natural do animal, segundo Tiveron (2005).

Siqueira (2005), realizou estudo que investigou clínica, biomecânica e histologicamente o efeito do exercício aeróbico, praticado em esteira elétrica, com carga, em ratas com menopausa induzida por ooforectomia, utilizando os mesmo tempos experimentais.

4.2.1 – Modelo de Menopausa

A ooforectomia foi escolhida como forma de indução à osteoporose em função das semelhanças aos seres humanos, inclusive das características pós-menopausa e a escolha do tempo de realização da ooforectomia, aos 120 dias (quatro meses) de idade, que levou em conta a intensidade da perda óssea, que depende da idade em que se realiza o procedimento e o estágio de maturação do sistema esquelético do animal. Segundo Paz et al. (1997), o animal é considerado maduro, na arquitetura óssea e no sistema endócrino, por apresentar capacidade reprodutiva, além de ser o tempo citado mais freqüentemente na literatura estudada e, também, por informações do biotério, a respeito da idade de início de reprodução destes animais.

Os modelos animais de osteoporose podem ser divididos em dois grupos, com predomínio de déficit de formação, caracterizados por baixa remodelação óssea em função de menor nível de formação óssea (ratos senis, sub-raça de camundongos de acelerada senescência, administração de glicocorticóides e imobilização, por exemplo) e com predomínio de reabsorção óssea, caracterizada por altos níveis de remodelação e perda óssea acelerada como ooforectomia/orquiectomia em ratos, cães, ovelhas, dieta com restrição de cálcio, imobilização e utilização de hormônios (Paz et al., 1997).

Os ratos apresentam acentuada redução da produção de estrógenos, após a ooforectomia, segundo Dias et al (1982), e mesmo após a retirada bilateral dos ovários, a produção hormonal não é interrompida totalmente em razão da síntese, em menor escala, nas glândulas supra-renais, além da reserva de natural

existente no tecido gorduroso periférico. Apesar desta parcela de estrógeno ser produzido extra-ovários é possível afirmar que após a retirada bilateral desses órgãos, a quantidade diminua consideravelmente e já é consenso que a massa óssea é influenciada por outros fatores que não sejam os hormonais, porém a perda ovariana é capaz, mesmo isoladamente, de causar redução da massa óssea (Turner, 1999; Fernandes, 2001).

Os tempos utilizados, pela idade no momento de sacrifício, correspondem respectivamente ao período adulto jovem (sete meses) e final do período adulto (dez meses), pois, a partir dos treze meses de idade, inicia-se o processo de perda de massa óssea (Vogel, 1980).

No delineamento utilizado, os animais foram sacrificados em períodos de pós-operatório de três e seis meses, apresentando, portanto sete e dez meses de idade, respectivamente no momento de avaliação, tempos que devem abranger a fase adulta do ciclo de vida do rato, já que o tempo de vida dessa linhagem é, em média, um ano e meio.

Acredita-se que a escolha, na presente investigação, de dois tempos experimentais, abrange boa parte do ciclo biológico do rato, e estudo de diferentes parâmetros clínicos, mecânicos e histológicos, podendo contribuir para o entendimento e padronização do modelo de osteoporose induzida por menopausa e que, portanto, o delineamento adotado esteja adequado aos objetivos da investigação.

4.2.2 – Protocolo de Exercício Aquático

A influência da atividade física na remodelação óssea e prevenção da osteoporose tem sido amplamente descrita, porém os mecanismos pelos quais o tecido ósseo responde ainda não estão totalmente esclarecidos.

A idade em que o animal inicia o exercício também deve ser considerada. São relatados na literatura diferentes períodos que são classificados de acordo com o ciclo biológico. Para Paz et al. (1997), o grau de perda óssea depende da idade que a ooforectomia é realizada, sendo mais intenso em animais

jovens quando comparados aos mais velhos e divide as fases do desenvolvimento ósseo em até os três meses (rápido grau de desenvolvimento); dos três aos seis meses (desenvolvimento mais gradual); seis meses a um ano (alterações mínimas); e após um ano (atinge-se o platô de crescimento).

Na tentativa de reproduzir a situação clínica mais comumente encontrada, ou seja, a mulher que nunca teve regularmente o hábito da prática de atividade física e no período de menopausa é instruída a iniciar algum tipo de atividade, para suposta prevenção da osteoporose, é que se optou pelo início do protocolo de exercício após uma semana de cirurgia, tempo necessário apenas para a cicatrização da ferida cirúrgica e recuperação da agressão cirúrgica, segundo Siqueira (2005). Desta maneira pôde-se investigar o efeito do exercício associado ou não as alterações provocadas pela falência ovariana que, segundo Paz et al. (1997), teria início após um mês da ooforectomia.

McArdle et al. (2002) afirmaram que o *American College of Sports Medicine* (ACMS), definiu a atividade física com sustentação de peso como essencial para o desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético. As atividades que estimulam o aumento da potência muscular, também parecem ser adequadas a esta finalidade, particularmente nos ossos do membro superior, que não são solicitados mecanicamente durante a sustentação de peso.

A natação difere em vários aspectos importantes de atividades com sustentação de peso. Uma das diferenças reside no fato de ser necessário depender energia para flutuar e, ao mesmo tempo, gerar o movimento horizontal pela utilização dos membros superiores e inferiores, tanto em combinação como separadamente. Outras diferenças incluem as demandas para superar as forças de resistência (atrito) que impedem o movimento anterógrado do nadador no meio líquido; esse atrito depende do meio líquido, dimensões, forma e velocidade do nadador, portanto o custo energético para nadar determinada distância é cerca de quatro vezes maior que o custo para correr a mesma distância (McArdle, 1998).

A vantagem da natação na manutenção da integridade esquelética, em pessoas idosas com a estrutura esquelética enfraquecida, é exatamente o não carregamento de peso.

Com o objetivo de investigar os efeitos da natação na remodelação óssea, Yamada et al. (2002) dividiram ratas em dois grupos, sendo um grupo sedentário e um grupo que praticou natação por 30 minutos, diariamente, por duas semanas. Após o protocolo de exercício, foram implantadas pílulas contendo proteína óssea morfogenética e matriz óssea desmineralizada, no estágio inicial de diferenciação de células mesenquimais para células de cartilagem. O resultado sugeriu que o sistema hormonal e/ou mudanças metabólicas promoveram formação de cartilagem, esse efeito pode ter ocorrido após a natação, porque os efeitos foram observados após o término do protocolo de exercício e as pílulas foram implantadas em local que não sofre descarga de peso (Yamada et al., 2002).

Pugliesi et al. (2005) realizaram estudos com ratos que praticaram natação, a fim de estudar a resistência mecânica do ligamento cruzado anterior. 96 ratos Wistar foram divididos em quatro grupos de 24 animais, sendo dois grupos controle e dois que praticaram natação, após os períodos pré-definidos foram sacrificados. Os membros posteriores bilaterais dissecados até a obtenção do espécime fêmur-ligamento cruzado anterior-tíbia para a realização dos ensaios mecânicos de tração. Concluíram que a natação praticada nos períodos de quatro e oito semanas, não influenciou de forma significativa o aumento da resistência do ligamento, apesar de haver tendência ao aumento.

Para a realização dos exercícios aquáticos, foram usados dois tanques a fim de dividir os animais no momento da prática da natação, em grupos de até oito animais, com termômetro, para aferir a temperatura da água e a sala com temperatura ambiente e umidade monitoradas.

Uyeno et al. (1965), utilizou protocolo de adaptação, sendo os animais, colocados em um tanque individualmente por dois minutos, com profundidade de 58 cm, e água na temperatura de 23^oC, e posteriormente nadaram até a exaustão, que foi padronizada em 20 segundos submersos e posteriormente, adicionada carga até 11% do peso corporal.

Melton et al. (2004) utilizou protocolo de exercício aquático, com água entre 31- 33^oC e profundidade de 76 cm iniciando o treinamento com 5 minutos de

duração e aumento progressivo até 75 minutos, realizado 5 dias/semana, por quatro semanas.

Pugliesi et al. (2005), utilizou a natação em ratos, por tempo de quatro e oito semanas, em água aquecida entre 33 e 35^oC, com profundidade de 1 metro, 1 hora/dia, 5 dias/semana.

Huang et al. (2003), dividiu os tanques em raias individuais, com 30cm de profundidade, 20cm de largura e 40cm de comprimento, com água à temperatura 35 ± 1^oC, com carga aumentada gradativamente de 0 até 2% do peso corporal, presa a cauda do animal, com freqüência de 5 dias/semana, por 8 semanas.

No protocolo utilizado, a temperatura da água foi de 35^oC, porém adaptação foi alterada para 32^oC, para evitar fadiga muscular, sendo que ao final do período de exercício a temperatura aferida foi em torno de 30^oC.

A profundidade foi inicialmente de 7cm e progressivamente aumentada até 60cm. Com duração de 15 minutos à uma hora, e freqüência de cinco dias na semana, com descanso de dois dias.

Gobatto et al. (2001), utilizou treinamento inicial colocando os ratos por apenas 10 minutos na água nos primeiros 7 dias, aumentando 10 minutos a cada 7 dias, sendo que no 21^o dia atingiu 60 minutos tempo mantido até o final do experimento.

Nesse trabalho, também foi realizado treinamento inicial, após uma semana de repouso pós-operatório, por quatro semanas, sendo a primeira semana, chamada de adaptação, em que os animais foram apenas colocados em 7cm de água por 15 minutos; na segunda semana, os animais foram mantidos em 30cm de água por 30 minutos; na terceira semana, 45cm de água por 45 minutos; e na quarta semana, 60 cm de água por 60 minutos e assim mantidos por três e seis meses, respectivamente até o momento de sacrifício pré-definido.

Os ratos foram supervisionados durante todo o tempo que praticaram a atividade para evitar que os mesmos parassem para descansar, assim como o monitoramento da temperatura da água.

Segundo a lei de Wolff, as alterações na arquitetura interna e conformação externa do osso, acompanham as mudanças na sustentação de peso pelo processo de remodelação esquelética, ou seja, a forma segue a função (Kaplan, 1995), isso nos permite supor que exercícios com carga aumentam a massa óssea mas não se tem, ainda, definido o protocolo ideal que condicione, de maneira efetiva a resposta óssea. Conclui-se, portanto que o protocolo escolhido contempla o estudo associado dos efeitos de dois tipos de solicitação: aeróbico (flutuação) e sem carga (natação) e parece adequado aos objetivos da presente investigação.

4.3 – Técnicas Utilizadas

4.3.1 – Ooforectomia

O modelo mais usado para investigação de perda óssea trabecular conseqüente à deficiência estrogênica é a ooforectomia em ratas. Outras alterações também são observadas como o aumento de peso, crescimento linear e diâmetro periostal (Paz et al., 1997).

A técnica utilizada para a ooforectomia, permite a observação macroscópica inequívoca dos ovários (Pereira*, 2001). Durante o procedimento cirúrgico, os animais evoluíram sem complicações durante a cirurgia ou período pós-operatório. Outros autores, também, utilizaram técnica semelhante (Dias et al. 1982; Barengolts et al., 1994; Tiveron, 2005; Siqueira, 2005).

4.3.2 – Ensaio Mecânico

A importância de se conhecer o comportamento mecânico em situações como a menopausa e osteoporose, inclui estimar o risco de fraturas, principal complicação dessa condição óssea.

Para o estudo do comportamento ósseo, pode-se utilizar técnicas de mensurações histológicas e bioquímicas, mas essas técnicas não permitem inferência direta da resistência óssea frente à exigência mecânica.

As propriedades mecânicas mais importantes, segundo Frankel & Nordin (2003), são a resistência e a rigidez. Essas propriedades só podem ser estudadas experimentalmente por meio de ensaio mecânico, que permite a observação do comportamento do osso submetido a carregamento.

O método usado para o estudo das propriedades mecânicas escolhidas, foi o ensaio de flexão, teste de três pontos. O equipamento utilizado é tipo eletromecânico o que confere grande precisão de resultados. Apesar da qualidade do equipamento, deve-se considerar que esses tipos de máquina, foram desenvolvidas para testes de materiais isotrópicos (metais, por exemplo), enquanto que materiais biológicos são de natureza viscoelástica (estruturas compostas por diferentes substâncias, incluindo fluídos, com múltiplas formas de arranjo). Portanto, os resultados obtidos, em toda investigação deste tipo, não são absolutos, mas os possíveis diante da limitação do método (Müller, 1998). É fundamental, portanto, que em todos os ensaios sejam padronizados o local de colocação dos apoios e que a carga seja aplicada em ponto equidistante das extremidades. Os resultados obtidos são, portanto específicos para esse tipo de ensaio.

O carregamento causa deformação, ou mudanças nas dimensões do corpo de prova, durante o ensaio. O osso é material anisotrópico, exibindo diferentes propriedades mecânicas quando exposto a cargas em diferentes situações. O osso maduro é mais resistente e rígido em compressão. A figura 39 apresenta o diagrama carga-deformação, regiões e pontos do traçado. A figura 40 mostra o método de cálculo do coeficiente de rigidez.

*Pereira GOM (Departamento de Farmacologia. Instituto de Biociências do Campus de Botucatu. UNESP) Comunicação pessoal, 2001.

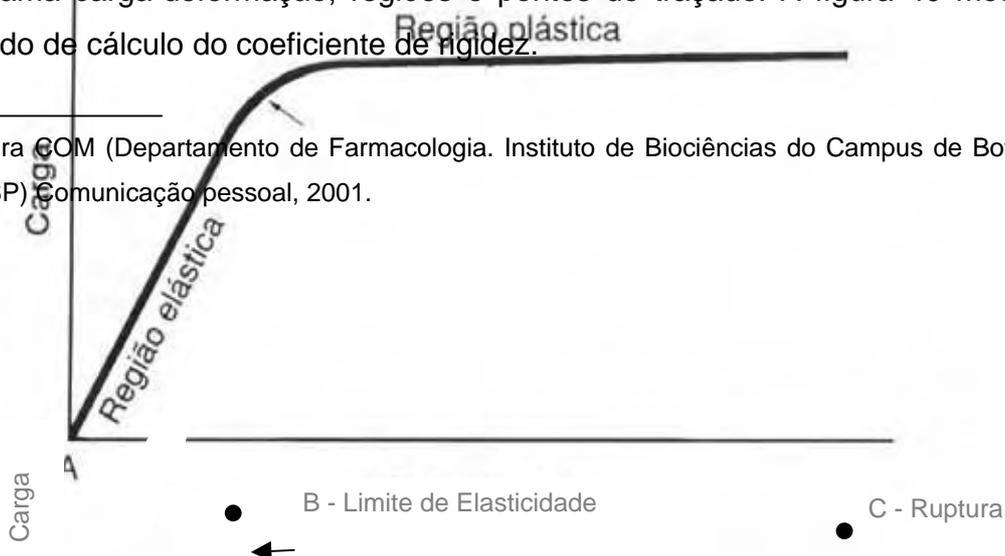


Figura 39 – Diagrama carga/deformação com as diversas regiões.

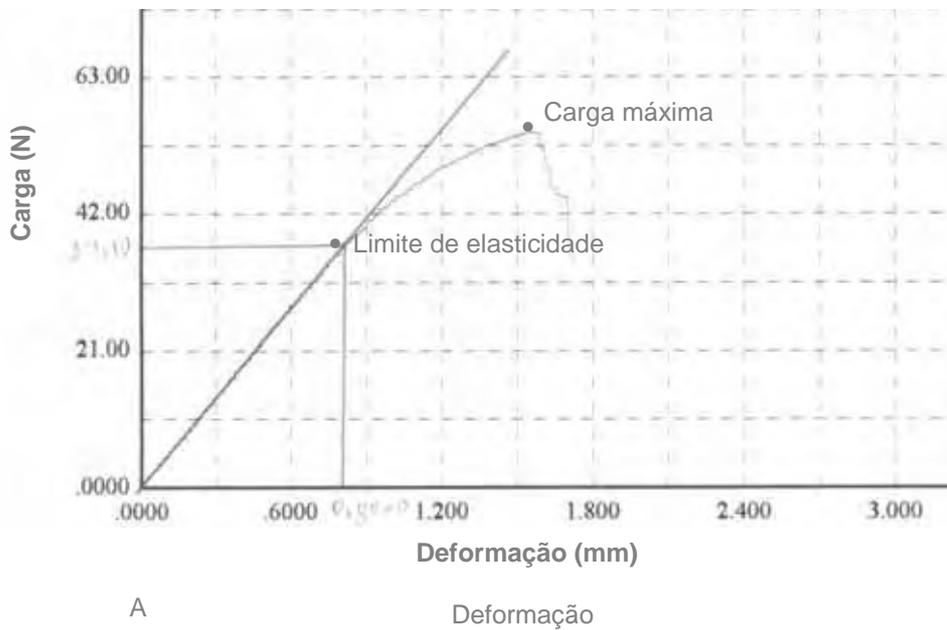


Figura 40 – Diagrama carga/deformação incluindo o trecho reto utilizado para cálculo do coeficiente de rigidez.

Forças e momentos podem ser aplicados a um corpo de prova em várias direções, produzindo tensão, compressão, flexão, cisalhamento, torção ou combinações de forças (Frankel & Nordin, 2003); Esses autores descreveram o ensaio de flexão em três pontos, utilizado na presente investigação, como carregamento que causa flexão ou “envergamento”, do corpo de prova até a fratura. O carregamento usado, na presente pesquisa, é chamado de flexão em três pontos ou teste de três pontos e é caracterizado pela ação de três forças que atuam simultaneamente no corpo de prova, produzindo dois momentos iguais, cada um sendo o produto de uma das duas forças periféricas pelas distâncias

perpendiculares ao eixo de rotação (ponto no qual a resultante é aplicada) e o carregamento posicionado ao centro conforme ilustrado pela figura 41.

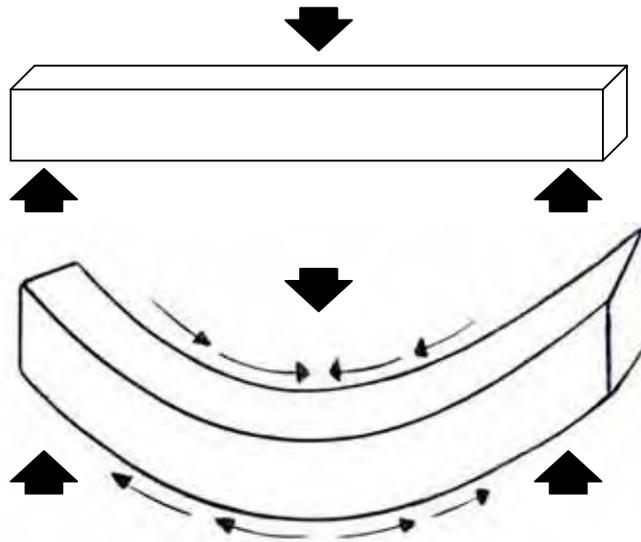


Figura 41 - Método de ensaio de flexão em três pontos.

A ilustração mostra que durante o carregamento em flexão, um dos lados do corpo de prova sofrerá tensão e deformação, face côncava (Frankel & Nordin, 2003). Segundo esses autores, nos ensaio de flexão de três pontos, três forças agem no corpo de prova produzindo dois momentos iguais e a fratura ocorre tipicamente no ponto de aplicação de carga.

É fundamental, portanto que todos os ensaios sejam padronizados, quanto ao local de colocação dos apoios, e que a carga seja aplicada em ponto equidistante das extremidades, pois o carregamento pode não ser igualmente distribuído, em função da assimetria da arquitetura óssea. Os resultados obtidos são, portanto, específicos para as condições do ensaio.

Do ponto de vista da biomecânica o tecido ósseo é viscoelástico, formado por cristais de hidroxiapatita (fosfato de cálcio), imersos em matriz de proteínas colagenosas e não colagenosas (Woolf, 1996) portanto, os resultados obtidos dependem não apenas da forma como o carregamento foi realizado, mas

também, da velocidade de aplicação da carga. Nesta pesquisa, foi utilizada a velocidade de 30 mm/min, considerada por Smith et al. (1993), como sendo a média. A escolha desta velocidade baseou-se na capacidade e tipo de máquina utilizada (eletromecânica), que não permite ensaios de alta velocidade (impacto) e também, porque ensaios de baixa e média velocidade são mais seguros e permitem resultados mais homogêneos (Müller et al., 2004).

Outros autores realizaram o mesmo teste, porém com corpo de provas distintos, e em diferentes velocidades. Banu et al. (1999) realizaram ensaio de três pontos na tíbia com aplicação de carga à velocidade constante de dois mm/min.

As propriedades mecânicas escolhidas no presente estudo foram carga máxima, limite de elasticidade e coeficiente de rigidez.

As variáveis escolhidas carga máxima, limite de elasticidade e coeficiente de rigidez são consideradas propriedades estruturais, isto é, relativas à tíbia do rato e são representativas do limite de utilização (carga máxima), limite de segurança (limite de elasticidade) e da estabilidade da estrutura (coeficiente de rigidez ou constante de proporcionalidade). Para estudo de propriedades materiais como tensão, módulo de elasticidade e outras, seria necessário o conhecimento da área de secção do corpo de prova, cálculo que foi evitado, em função da irregularidade anatômica da tíbia e dos prováveis erros inerente ao método de cálculo.

A carga máxima é definida como a máxima carga suportada pelo corpo de prova até a ruptura, medida essa, fornecida diretamente pelo programa da máquina de ensaios universal, que também fornece o diagrama carga-deformação sendo a carga máxima, o ponto mais alto da curva desse diagrama.

A partir do diagrama carga-deformação e aplicando-se o método de Johnson, foram obtidos o coeficiente de rigidez e o limite de elasticidade (Chiaverini, 1986).

O coeficiente de rigidez ou constante de proporcionalidade (k) é o indicativo da estabilidade do material, sendo obtido da relação entre carga e deformação. O coeficiente de rigidez é calculado a partir da reta da fase elástica do diagrama carga-deformação, que vai até o limite de proporcionalidade ou

elasticidade. Após este ponto, inicia-se a fase plástica em que as deformações já são definitivas, ou seja, mesmo que o carregamento seja interrompido, o corpo de prova não retornará à dimensão e forma iniciais; sendo mantida a força aplicada sobre o corpo de prova, obtém-se a carga máxima, em que o corpo de prova sofre a fratura.

O limite de elasticidade é o limite, considerado seguro, em que a medida representada é o limite de deformação que o corpo de prova suporta antes da ocorrência de alguma deformação plástica. Obteve-se essa medida traçando uma reta na curva do diagrama carga-deformação e, exatamente no ponto em que a reta abandona a curva, calcula-se o limite de elasticidade (Chiaverini, 1986).

Segundo Frankel & Nordin (2003) quando uma carga, numa direção conhecida, é imposta a uma estrutura a relação entre carga e deformação pode ser mensurada e plotada numa curva. A porção inicial da curva (fase reta), região elástica, revela a rigidez da estrutura, isto é, a capacidade de retornar à forma original se a carga for interrompida. Enquanto a carga é aplicada, as fibras mais externas da estrutura começam a ceder em um ponto, esse ponto onde se inicia a cedência, sinaliza o limite de elasticidade da estrutura. Se a carga exceder esse limite, a estrutura exibirá comportamento plástico, refletido na segunda porção da curva, região plástica.

Na fase plástica, a estrutura não mais retornará à dimensão original e se a carga for interrompida restará alguma deformação residual. Se a carga for progressivamente aumentada a estrutura falhará.

Pode-se considerar, pelas informações presentes na literatura, que a escolha do ensaio de flexão em três pontos esteja adequada aos objetivos do presente estudo, embora não seja o único método disponível.

4.3.3 – Estudo Histológico

A microarquitetura do tecido ósseo foi investigada por meio de análise histomorfométrica com o objetivo de quantificar as eventuais alterações. Os parâmetros histológicos analisados nesta pesquisa foram: área cortical (objetiva

de 20x e medida em mm^2) e área trabecular (objetiva de 5x e medida em porcentagem). A escolha da objetiva, segundo Junqueira & Carneiro (1995), deve levar em conta que o fator mais importante para a obtenção da boa imagem é a resolução; esta é a menor distância para que duas partículas apareçam como objetos separados e, portanto, o que determina a riqueza de detalhes da imagem fornecida pelo sistema óptico, é o limite resolutivo que depende essencialmente da objetiva.

O cálculo da área trabecular foi realizado por meio de análise do corte sagital na região metafisária, região proximal da tíbia, próxima ao disco epifisário, em função desta região ser um dos primeiros locais a sofrer alterações ósseas após a ooforectomia, além do predomínio do osso trabecular e, portanto mais exposta à perda óssea. Vários autores, como Barendolts et al. (1994), utilizaram essa região para diferentes cálculos.

Além da região metafisária, foi analisada também a cortical na porção média da diáfise, pelo fato de ter a composição diferente da porção trabecular do osso. Banu et al. (1999) também analisou essa variável.

Segundo Paz et al. (1997), as áreas de maior perda óssea são aquelas ricas em osso trabecular tais como, vértebras e metáfises de ossos longos, como tíbia e fêmur.

4.4 – Resultados

4.4.1 – Estudo Clínico

4.4.1.1 – Peso Corpóreo

A análise estatística relativa ao peso corpóreo dos animais testou a evolução ao longo do tempo dentro de cada grupo, a comparação entre grupos em cada momento de sacrifício e o efeito da atividade física.

Animais com privação de hormônio, ou seja, ooforectomizadas, tiveram peso corporal maior que o grupo placebo em todas comparações, embora essa diferença não seja significativa. Apenas no grupo de seis meses, as ooforectomizadas sedentárias tiveram a massa corpórea significativamente maior quando comparadas ao grupo placebo. Isso nos leva à suposição que, a falta do hormônio influenciou o peso corporal, além do sedentarismo.

Quanto ao efeito do tempo de sacrifício aos três e seis meses, somente no grupo sedentário, as ratas ooforectomizadas, apresentaram aumento do peso corpóreo significativo aos seis meses, quando comparado ao grupo de três meses, mas esse resultado significativo não aparece no grupo placebo, nem no grupo exercício, e isso mostra que o efeito do hormônio existe, mas é tempo-dependente, quanto mais tempo de privação hormonal, maior a tendência do peso aumentar ao longo do tempo, além do sedentarismo.

Quanto ao efeito do exercício, para os animais que por três ou seis meses praticaram ou não exercício, não houve diferença estatisticamente significativa, nem para o grupo placebo, nem ooforectomia. Embora o peso corporal total seja semelhante em todos os grupos, é visível a diferença entre os grupos placebo e ooforectomizado a longo prazo; aparentemente, é possível supor que os animais tenham massa magra e massa gorda em diferentes proporções, mas no presente estudo não foi medida a composição corporal.

A hipertrofia muscular no animal que tem hormônio e praticou exercício, provavelmente seja imputada a massa magra, diferente dos animais ooforectomizados ou com privação hormonal, o ganho de peso seja de massa gorda. Portanto, supõe-se que o exercício protegeu o ganho de peso (massa gorda).

Na ausência de hormônio à longo prazo, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo sedentário e exercício, provavelmente pela diferença entre os tipos de massa corporal adquiridas.

Constata-se, portanto, que a retirada dos ovários ao longo do tempo leva ao aumento de peso corporal e o exercício parece compensar o ganho de peso.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados na literatura que relatam que mesmo em condições similares de nutrição ocorre alteração do perfil lipídico após o climatério em função da alteração não apenas da distribuição de tecido adiposo, causado pela deficiência de estrógenos, mas também pelo acúmulo periférico de gordura (Dias et al., 1982).

Tiveron (2005) também observou aumento de peso nas ratas ooforectomizadas, principalmente aos nove meses pós-operatório quando comparadas ao placebo, porém aos doze meses essa diferença não foi observada. Esse fato, talvez possa ser explicado, em função de aos doze meses, esse efeito esbarrar na senilidade do animal, com possível redução da ingesta alimentar, porém esse efeito, não foi suficiente para causar diferença ao longo do tempo. Para Castro (2000) o fator nutrição é extremamente importante. Segundo esse autor, este fator é primordial para limitar o ganho de peso nos animais ooforectomizadas.

Siqueira (2005), que investigou o efeito do exercício aeróbico, praticado em esteira elétrica, com carga, constatou que nas ratas sedentárias, apenas aos seis meses, houve aumento significativo. A longo prazo esse efeito ocorreu tanto nas sedentárias como nas exercitadas; quanto ao efeito do tempo, observa-se a relação de aumento de peso nas ratas ooforectomizadas no grupo sedentário, aos três meses e no grupo placebo, aos seis meses que praticaram exercício.

Para excluir o efeito da dieta sobre o peso da rata, Barendolts et al. (1994) forneceu apenas parte da ração para o grupo ooforectomizado em relação ao placebo e observou ganho de peso nas ratas ooforectomizadas em relação às intactas e concluiu que a simples restrição de alimento nas ratas ooforectomizadas foi insuficiente para prevenir o ganho de peso.

Concluindo, o déficit hormonal aumentou o peso corporal e o exercício, nas ratas ooforectomizadas, ao longo do tempo, compensou esse ganho de peso.

4.4.2 – Propriedades Mecânicas

4.4.2.1 – Carga Máxima

A escolha desse parâmetro está justificada pelo objetivo do trabalho de analisar as possíveis repercussões da ooforectomia e do exercício do ponto de vista da resistência óssea.

A carga máxima representa a quantidade máxima de carga suportada pelo corpo de prova até a ruptura. Após esse ponto o corpo de prova perde a capacidade de suportar qualquer carga.

Vários autores como Barengolts et al. (1994) Paz et al. (1997), Huang et al. (2003) e Pugliesi et al. (2005), pesquisaram os efeitos do exercício nas propriedades mecânicas de ossos de ratos, porém com delineamentos diferentes quanto à idade do animal, tipo de exercício, região anatômica utilizada e método de ensaio, com conclusões variadas. A carga máxima é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a resistência do osso e está presente na maior parte dos modelos experimentais.

O exercício realizado no meio líquido anula o efeito da gravidade e da sustentação de peso, solicitando, portanto a região diafisária diferentemente de outros tipos de exercícios, sendo essa região, menos exposta ao efeito hormonal e a osteoporose. Em humanos, a região mais afetada na osteoporose é a região metafisária, com pouca repercussão na diáfise óssea (Siqueira, 2005).

No grupo sedentário, a ausência de hormônio por três meses, não teve repercussão na carga máxima, comparado ao placebo; mas aos seis meses, o grupo sedentário e ooforectomizado, apresentaram maior carga máxima que o placebo, resultado inesperado que, talvez possa ter ocorrido em função de características individuais dos animais da amostra.

Para o grupo que praticou exercício, também não houve diferença estatisticamente significativa aos três e aos seis meses e, supõe-se que a perda do hormônio não interferiu na carga máxima, medida na região diafisária que, provavelmente é a região menos exposta à perda hormonal. Isso mostra que o exercício mesmo na vigência de hormônio, não foi capaz de interferir, aumentando a resistência óssea, nessa região diafisária. Por outro lado, a presença de

hormônio associado ao exercício também, não promoveu aumento da resistência óssea.

Quanto ao efeito do tempo, os animais do grupo sedentário com vigência hormonal, apresentaram maior carga máxima aos três meses quando comparado aos seis meses, e pode-se supor que esse efeito hormonal é tempo-dependente, porque mesmo os animais supridos de hormônio, o tempo influenciou na carga máxima, reduzindo-a; para o grupo privado de hormônio, esse resultado não foi observado. Para os grupos que praticaram exercício, não houve diferença significativa aos três e seis meses, na vigência ou privação hormonal.

O efeito do exercício foi observado no grupo privado de hormônio por três meses que apresentou maior carga máxima que o grupo sedentário, porém aos seis meses, o resultado se iguala, aparentemente. No grupo com vigência de hormônio, somente aos seis meses, o grupo que praticou exercício, apresentou maior carga máxima que o sedentário. Na ausência de hormônio, o exercício a longo prazo, não alterou a carga máxima do osso.

Pode-se afirmar que esse protocolo de exercício, na combinação com hormônio, teve um resultado positivo, para as condições consideradas nesse estudo.

Banu et al. (1999), em experimento com ratas normais de treze meses de idade, verificaram que o grupo que realizou exercício voluntário na roda, por quatro meses e meio, apresentou aumento da carga máxima da diáfise da tíbia em 9% quando comparado ao grupo controle sedentário da mesma idade; e também encontraram aumento de 36% no grupo que recebeu hormônio de crescimento; já no grupo em que se combinou exercício e hormônio não ocorreu aumento da carga máxima em relação ao que só recebeu o hormônio de crescimento.

A densidade do fêmur foi maior, segundo Melton et al. (2004), nas ratas exercitadas quando comparadas às sedentárias, mas diminuiu nas ratas ooforectomizadas quando comparadas as placebo; esse resultado indica que, o exercício dinâmico de flutuação na água poderia prevenir a perda de osso femoral associada à ooforectomia, em ratas.

Siqueira (2005), em grupos sedentários, observou que a ooforectomia por três ou seis meses, não causou diferença significativa na carga máxima, resultado parcialmente encontrado por Tiveron (2005) que observou que, três meses pós-operatório não foram suficientes para a indução da perda da resistência, que ocorreu, entretanto aos seis meses de pós-operatório.

Pode-se imaginar, portanto, que o osso cortical compacto, seja mais estável e resistente às alterações induzidas pela menopausa mesmo no processo natural de envelhecimento, o que explicaria o resultado obtido e a menor incidência de fraturas na região diafisária, mesmo em casos de osteoporose severa (Tiveron, 2005).

De maneira geral, segundo a literatura, há concordância no fato da privação hormonal induzir à perda da resistência óssea que se manifesta, entretanto, de diferentes maneiras conforme o método de ensaio e principalmente conforme o osso e região estudada. No presente estudo, foi escolhido, a região diafisária da tíbia (maior parte composta de osso cortical), com o objetivo de pesquisar o efeito do déficit hormonal e do exercício, combinados ou não, nesta região. O osso cortical parece ser mais estável e resistente às alterações provocadas pela menopausa. Este fato explicaria a menor incidência de fraturas diafisárias mesmo na osteoporose acentuada (Siqueira, 2005).

Pode-se afirmar que esse protocolo de exercício, na combinação com hormônio, apresentou resultado positivo, nas condições observadas.

Conclui-se que o exercício a longo prazo na vigência de hormônio, foi capaz de aumentar a carga máxima comparado ao grupo sedentário mas esse efeito não se repete nos animais privados de hormônio.

4.4.2.2 – Limite de Elasticidade

O limite de elasticidade, chamado de limite de segurança, é a medida que representa a carga que o corpo de prova suporta antes da ocorrência de alguma deformação plástica.

Quanto ao efeito hormonal, não houve diferença estatística significativa, nem no grupo sedentário, nem no grupo dos animais que praticaram exercício, independente do tempo, provavelmente esse resultado não seja ligado à condição hormonal mas, à variável que foi estudada em região diafisária (região de maior quantidade de osso cortical compacto) e menos exposta aos efeitos do hormônio, como já comentado.

Comparando animais sedentários com vigência de hormônio, o grupo de três meses teve aumento significativo nesse parâmetro, comparado ao grupo de seis meses, o que pode levar à suposição que os animais que se mantiveram sedentários, por um maior espaço de tempo, apresentam menor resistência óssea; esse resultado não se repete nem no grupo ooforectomia, nem nos animais que praticaram exercício, sendo assim, pode-se imaginar que o exercício não interferiu na resistência do osso ao longo do tempo.

Animais privados de hormônio, que praticaram exercício por três meses, apresentaram aumento significativo, comparado aos sedentários, e parece que a privação hormonal, em curto espaço de tempo, associada ao exercício promoveu aumento da resistência óssea; no grupo com vigência hormonal, também exercitado por três meses, essa diferença não foi observada. Entretanto, aos seis meses, os animais exercitados apresentaram maior resistência óssea comparado aos sedentários. Esse resultado mostra que o exercício a longo prazo, tem efeito positivo na resistência do osso. Já na ausência do hormônio, exercício a longo prazo, não apresentou diferença significativa para o parâmetro estudado.

Para Siqueira (2005) a retirada dos ovários, isoladamente, não teve repercussões no limite de elasticidade, talvez pela porção cortical do osso ser menos atingida e em fases mais tardias. Já o exercício por seis meses associado à presença de hormônio, aumentou este parâmetro assim como, a carga máxima, demonstrando que o protocolo de exercício utilizado (corrida na esteira) foi eficaz para aumentar o limite de utilização segura do osso nas ratas placebo e, a ausência de hormônio foi compensada pelo exercício somente nos primeiros três meses, mostrando possivelmente que a ausência de hormônio, sobrepõe-se ao efeito do exercício ao longo do tempo.

Os resultados obtidos são específicos para as condições estabelecidas na pesquisa e fica difícil a comparação com outros trabalhos. A maior parte dos trabalhos disponíveis não analisa este parâmetro. Apesar de não ser freqüentemente utilizado nos trabalhos experimentais, esse parâmetro é de extrema importância, pois por meio deste, pode-se ter a medida de utilização segura da estrutura.

Conclui-se, portanto, que há efeito do exercício apenas na vigência hormonal a longo prazo, o que não se repete nos animais privados de hormônio, em que o exercício a longo prazo não apresentou diferença significativa.

4.4.2.3 – Coeficiente de Rigidez

O coeficiente de rigidez ou constante de proporcionalidade (k) é indicativo da relação entre carga e deformação. Representa a estabilidade do material (quantidade e qualidade) dos componentes; o aumento da rigidez deve ser interpretado como a capacidade do corpo de prova se romper com menor deformação, condição típica dos materiais frágeis, como por exemplo, o vidro (Tiveron, 2005).

Quanto ao efeito do tratamento, a análise estatística dos resultados do coeficiente de rigidez, não apresentou diferença significativa entre os grupos quando comparados os animais placebos e ooforectomizados, nos quais independente da condição hormonal, esse parâmetro não teve alteração importante.

Também não houve diferença estatisticamente significativa, quanto ao efeito do tempo, tanto aos três como aos seis meses. Independente do tempo de vigência ou privação hormonal e do tempo da prática ou não de exercícios, os grupos apresentaram comportamento semelhante para essa variável, nessas condições.

Em animais com vigência ou privação de hormônio, aos três meses, o exercício não influenciou no coeficiente de rigidez de forma significativa. Os animais com vigência hormonal, que praticaram exercícios por período de seis

meses, apresentaram maior coeficiente de rigidez quando comparado ao grupo sedentário. Pode-se supor, então, que o grupo que praticou exercício apresentou maior estabilidade óssea que o grupo que se manteve sedentário, e portanto, pode-se imaginar que a combinação hormônio-exercício alterou positivamente o coeficiente de rigidez a longo prazo. Nos animais com privação hormonal, esse resultado não se repetiu, ou seja, na ausência de hormônio, esse tipo de exercício a longo prazo, não foi capaz de alterar o coeficiente de rigidez.

Também, na presença de hormônio, para Siqueira (2005), o exercício por seis meses aumentou significativamente o coeficiente de rigidez, mas não apresentou efeito isoladamente nos animais em privação hormonal.

A análise da literatura mostra que os delineamentos são bastante variáveis e que nem sempre o efeito da privação hormonal pode ser relacionado diretamente à alteração da rigidez. É provável que modificações da rigidez estejam ligadas, a exemplo da resistência (carga máxima), ao tipo de carregamento e à região anatômica testada, osso diafisário ou metafisário e ao tempo de privação hormonal ou envelhecimento, fatos que tornam difícil a comparação entre os diversos trabalhos.

Conclui-se, portanto, que o efeito do exercício no coeficiente de rigidez pode ocorrer a longo prazo em animais com hormônio preservado, ou seja só há efeito positivo para essa variável, com exercício a longo prazo na combinação com hormônio.

4.4.3 – Histomorfometria

4.4.3.1 – Área Cortical

A análise estatística da área cortical (mediana e semi-amplitude total), quanto ao efeito hormonal, entre os animais sedentários, com ou sem hormônio, não mostrou diferença significativa. O grupo com vigência hormonal que praticou exercício, por seis meses, apresentou diferença significativa em relação ao privado de hormônio e, talvez, a associação hormônio-exercício a longo prazo tenha influenciado positivamente na área cortical.

Os animais sedentários, na vigência ou privação hormonal, não apresentaram alterações significativas, quanto a área cortical a curto ou a longo prazo. Os animais que praticaram exercício por seis meses e eram supridos de hormônio, apresentaram aumento significativo da área cortical, mostrando que houve efeito do exercício, mas esse efeito é tempo-dependente. No grupo privado de hormônio, esse resultado não se repetiu.

Quanto ao efeito da atividade, praticada por três meses, não constatou-se alterações, na vigência ou privação de hormônio, ou seja fazer ou não exercício em curto espaço de tempo não altera essa variável. No grupo com vigência hormonal que praticou exercício por seis meses, observou-se aumento estatisticamente significativo desse parâmetro, quando comparado ao sedentário. Supõe-se que houve efeito combinado de hormônio-exercício alterando a área cortical. Na ausência de hormônio, o exercício a longo prazo, não resultou em efeito benéfico para a porção cortical óssea.

Como o exercício foi realizado em meio aquático, sem ação da gravidade, possivelmente o efeito da hipertrofia muscular, pode ter estimulado o espessamento da área cortical.

Para Siqueira (2005), a retirada dos ovários não alterou a porção cortical do osso, mas o exercício aeróbico associado à carga teve influência positiva para essa variável.

Conclui-se, portanto que a natação alterou a área cortical óssea, na vigência hormonal a longo prazo, e na condição de privação hormonal, mesmo o exercício a longo prazo não apresentou esse efeito.

4.4.3.2 – Área Trabecular

Calculada na metáfise do osso, a porcentagem de área trabecular foi escolhida por ser essa região, a mais indicada para este tipo de estudo, com predomínio de osso esponjoso e por ser a porção mais acometida pela diminuição hormonal pós-menopausa.

Animais sedentários aos três e seis meses, privados ou com vigência hormonal, não apresentaram diferença significativa quanto a área medular, nem os que praticaram exercício por três meses, entretanto os que praticaram exercício por seis meses e eram supridos de hormônio, tiveram aumento significativo da área trabecular, pode ser devido a combinação hormônio-exercício.

Em animais com ou sem hormônio, o sedentarismo ou a prática de exercício, não alteraram a área trabecular significativamente, aos três ou seis meses. Em razão das limitações do próprio método ou em razão dos cortes histológicos, resultados variáveis podem ser ocorrido, comprovados pela grande taxa de variação encontrada.

Quanto ao efeito da atividade, não houve alteração significativa para a área trabecular, entre animais que praticaram exercícios e sedentários. Nessa variável não foi possível esclarecer de maneira definitiva, a importância quer do hormônio ou exercício físico em função da grande variação dos resultados.

O resultado da medida da área de osso trabecular indicou que animais com privação hormonal e o envelhecimento atuaram de maneira desfavorável no osso metafisário, ainda que a análise desse tipo de variável apresente dificuldades de ordem metodológica segundo Tiveron (2005). Em concordância com esses resultados à privação de hormônio, também reduziu a área trabecular, para Siqueira (2005), mas esse resultado não foi alterado pelo protocolo de exercício utilizado ou pelo tempo.

Conclui-se, portanto, que o exercício independente do tempo ou da condição hormonal, parece não ter influenciado de maneira significativa essa variável.

4.4 – Considerações Finais

O protocolo de ooforectomia utilizado na presente investigação permitiu o estudo dos efeitos da privação hormonal no sistema esquelético, no estágio inicial, o que simularia a mulher sedentária que após a menopausa começa a praticar exercícios, para supostamente prevenir alterações ósseas.

A utilização simultânea de parâmetros clínico, biomecânicos e histológicos, permitiu concluir que a retirada dos ovários promoveu aumento do peso corporal. Como não foi realizado estudo da composição corporal não se pode afirmar se, o aumento de peso ocorreu em razão do aumento da porção muscular, porção gordurosa ou outras estruturas. O protocolo de exercícios utilizado não foi capaz de prevenir esse aumento.

Os trabalhos citados, não permitem a realização de comparação direta devido às condições e aos protocolos de exercícios serem distintos e devido a escassez da literatura pesquisada quanto a trabalhos com exercícios aquáticos.

Parece que a região metafisária, composta na maior parte de osso trabecular e a região diafisária, onde predomina o osso cortical, respondem de maneira diferenciada à privação hormonal e ao exercício. Em situações de privação hormonal, a região metafisária parece sofrer alterações de maneira mais intensa e precoce que a porção diafisária.

Deve-se atentar para a restrição dos resultados em pesquisas experimentais, que difere da prática em humanos, pois há diferenças entre as espécies, principalmente quanto à prática médica, em que pacientes apresentam perfis diferentes em relação à genética, nutrição, antecedentes pessoais, prática de atividades físicas entre outros, tornando o tratamento e prevenção da osteoporose objeto de recomendação individualizada.

Os exercícios apresentam vários benefícios que, indiretamente, pode atuar na prevenção e tratamento das fraturas, proporcionando aumento de trofismo muscular, melhora da agilidade e equilíbrio, auxiliando na consolidação óssea e prevenindo novas fraturas.

Deve-se ressaltar, entretanto, que os resultados da presente investigação discordam das conclusões de Hart et al. (2001) que demonstraram aumento de massa óssea, densidade e resistência, em ratas ooforectomizadas, e exercitadas em meio líquido. Os autores não avançaram, porém, na discussão dos mecanismos que levaram à melhora dos parâmetros estudados. Melton et al. (2004) também chegaram a conclusões semelhantes, apontando o benefício do exercício aquático, em situações de privação hormonal.

Os resultados da presente investigação, principalmente em relação à histomorfometria da área trabecular, apresentaram grande variação, exigindo a adoção de testes não-paramétricos. Este fato pode ser justificado pela natureza do método, dependente do corte histológico.

Finalmente é preciso reconhecer que a prática de exercícios, embora benéfica em vários sentidos, não pode ser considerada como substitutiva dos hormônios e que é preciso continuar a prospecção de conhecimentos que melhorem a compreensão dos mecanismos pelos quais o tecido ósseo responde ao estímulo mecânico.

5. CONCLUSÃO

Em ratas e nas condições observadas na presente investigação:

A ooforectomia causou ganho de peso compensado parcialmente pelo exercício físico.

A associação entre exercício físico e hormônio melhorou a resistência óssea (carga máxima e limite de elasticidade), a estabilidade da estrutura (coeficiente de rigidez), aumento a espessura da cortical e preservou a área trabecular.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Banu MJ, Orhii PB, Mejia W, McCarter RJM, Mosekilde L, Thomsen JS, et al. Analysis of the effects of growth hormone, voluntary exercise, and food restrictions on diaphyseal bone in female F344 rats. *Bone* 1999; 25: 469- 80.

Barengolts EI, Lathon PV, Curry DJ, Kukreja SC. Effects of endurance exercise on bone histomorphometric parameters in intact and ovariectomized rats. *Bone Miner* 1994; 26: 133- 40.

Borelli A. Considerações sobre os termos osteoporose e osteopenia. *Rev Bras Med* 1994; 51: 743-4.

Bossemeyer R. Aspectos gerais do climatério. IN: Fernandes CE, Melo NR, Wehba S. Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial; 1999. cap. 1, p.17- 33.

Bynny RL, Speroff L. Climatério: Guia clínico de atendimento da mulher idosa. Rio de Janeiro: Revinter; 1996.

Carneiro RA. Osteoporose: problema mundial. *ARS CVRANDI Clin Med* 1996; 29(5): 5- 7.

Carvalho MACR, Santos E, Sá MFS. Avaliação multidisciplinar da osteoporose. *Reprod e Climat* 1996; 11(4): 184- 7.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *J Pediatr* 1997; 73: 213-24.

National Library Of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2001. 248p.

Castro CHM. Modelos animais em osteoporose. In: Szeejnfeld VL. Osteoporose diagnóstico e tratamento. São Paulo: Sarvier; 2000. p. 46- 53.

Chiaverini V. Resistência à tração e resistência à compressão. In: Tecnologia mecânica. 2ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 1986. p. 93- 117.

Cliquet Jr, A, Carvalho DCL. Ação do ultra-som de baixa intensidade sobre ossos de ratas osteopênicas. Acta Ortop Bras 2003; 11(1): 17- 24.

Costeira O. Termos e expressões da prática médica. Rio de Janeiro: Laboratório FQM; 2001.

Dequeker J, Ortner DJ, Stix AI, Cheng XG, Brys P, Boonen S. Hip fracture and osteoporosis in a XIIIth Dynasty female skeleton from Lisht, upper Egypt. J Bone Miner Res 1997; 12: 881- 8.

Dias R, Luca LA, Ramos MD, Antonini FR, Rudge MVC. Avaliação da atividade estrogênica após a menopausa. J Bras Ginecol 1982; 92: 261- 9.

Dias R. Alterações bioquímicas e placentárias da hipertensão arterial sobre a prenhez e os recém-nascidos: estudo experimental em ratos [dissertação] Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 1989.

Fernandes CE, Melo NR, Wheba S, Machado RB. Osteoporose pós-menopáusicas. In: Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial; 1999. cap. 7, p.93- 139.

Fernandes CE. Osteoporose pós-menopáusicas. In: Oliveira HC, Lemgruber I. Tratado de ginecologia FEBRASG. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 679- 93.

Ferreira JAS. A perimenopausa. In: Fernandes CE, Melo NR, Wheba S, Machado RB. Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial; 1999. cap.3, p.41- 50.

Ferriani RA. Endocrinologia da menopausa. In: Fernandes CE, Melo NR, Wheba S, Machado RB. Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial; 1999. cap.2, p.35- 40.

Forwood MR, Larsen JA. Exercise recommendations for osteoporosis. *Austr Fam Phys* 2000; 29(8): 761- 4.

Frankel VH, Nordin M. Biomecânica do osso. In: Frankel VH, Nordin M. Biomecânica do sistema músculo-esquelético. 3^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 23- 49.

Gallagher JC, Melton LJ, Riggs BL, Bergstralh, E. Epidemiology of fractures of the proximal femur in Rochester, Minnesota, *Clin Orthop* 1980; 150:163. In: Fernandes CE, Melo NR, Wheba S, Machado RB. Osteoporose pós-menopáusia. Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e Tratamento. Lemos Editorial. São Paulo-SP.Cap.7, p.93-139, 1999.

Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokobun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Bioch Phys Part A* 130 (2001) 21- 7.

Gordon GS, Picchi J, Roof BS. Antifracture efficacy of long-term estrogens for osteoporosis. *Trans Assoc Am Phys* 1973; 86: 326- 32.

Griffin J. Osteoporose e o risco de fratura. Londres: Office Health Economics; 1990.

Guarniero R, Oliveira LG. Osteoporose: atualização no diagnóstico e princípios básicos para o tratamento. Rev Bras Ortop 2004; 39(9): 477- 85.

Hart KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength and dynamics. J Appl Physiol 2001; 91: 1663- 8.

Huang TH, Lin SC, Chang FL, Hsieh SS, Liu SH, Yang RS. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. J Appl Physiol 2003; 95(1): 300- 7.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção da população do Brasil: Brasil já tem mais de 180 milhões de habitantes. [on line], 2004. [acesso em jun de 2005]. Disponível em : <http://www.ibge.gov.br>.

Judex S, Whiting WC, Zernicke RF. Exercise-induced bone adaptation: considerations for designing an osteogenically effective exercise program. Int J Ind Ergon 1999; 24: 235- 8.

Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1995.

Kanis JA, Mccloskey EV. Evaluation of the risk of hip fracture. Bone 1996; 18 (suppl 3): 127- 32.

Kaplan FS. Prevenção e tratamento da osteoporose. Rev Clin Symp 1995; 47: 3-37.

Kiel DP, Felson DT, Anderson JJ, Wilson PWF, Moskowitz MA. Hip fracture and the use of estrogens in postmenopausal women: the framingham study. N Engl J Med 1987; 317: 1169- 74.

Mabrey JD. Ortopedia: diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. v. 4, p. 10- 11.

McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano [apêndice] 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 662-8.

McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Energia para a atividade física. In: Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

Melton SA, Hegsted M, Keenan MJ, Morris GS, O'Neil CE, Zablah-Pimentel. Water exercise prevents femur density loss associated with ovariectomy in the retired breeder rat. J Strength and Cond Res; 2004. 18(3): 508-12.

Müller SS. Análise comparativa das propriedades mecânicas do ligamento da patela e do tendão calcâneo [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 1998.

Müller SS, Curcelli EC, Sardenberg T, Zuccon A, Crudis Jr JL, Padovani CR. Análise clínica e biomecânica do efeito do diclofenaco sódico na consolidação da fratura da tíbia no rato. Acta Ortop Bras 2004; 4:197- 204.

Nordin BEC, Crilly RG, Smith DA. Osteoporosis. In: Metabolic bone and stone disease. Edinburgh: Nordin BEC; 1984. p.1- 70.

Norman GR, Streiner DL. Bioestatística: the base essentials. Saint Louis: Mosby Book; 1974. p. 260.

OMS/WHO. Investigaciones sobre la menopausia. Ginebra: OMS; 1981. p.8. (Série de informes técnicos, 670).

Paz LHBC, Jorgetti V, Yoshinari NH. Modelos animais de osteoporose. Rev Hosp Calem Fac Med São Paulo; 1997; 52(2): 86- 9.

Plapler PG. Prevenção é a chave contra a doença. Rev Super Saudável 2002; 2(6): 10.

Pugliesi HB, Moro CA, Paccola CAJ. Estudo da resistência do ligamento cruzado anterior em ratos que praticaram natação. Rev Bras Ortop 2005; 40(5): 260- 9.

Riggs BL. Pathogenesis of osteoporosis. Am J Obstet Gynecol 1987; 156(5): 1342-6.

Riggs, B.L., Melton, L.J. III (editors). Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management. New York: Raven Press, 1988. In: Kaplan FS. Prevenção e tratamento da osteoporose. Clinical Symposia, Ed. Ciba-Geigy Corporation, v.47, n.1 p.13, New Jersey, 1995.

Roos MV, Camisa Jr A. Osteoartrose de quadril. Ortopedia no Adulto - Sbot São Paulo: Ed. Revinter 2004; p. 201- 17.

Salter RB. Distúrbio degenerativo das articulações e dos tecidos afins. In: Distúrbios e lesões do sistema músculo-esquelético. 2^a ed. São Paulo: Medsi, 1985. p. 203- 38.

Santarém JM. Exercício físico e osteoporose. [on line], [acesso em 12 ago 2001]. Disponível em: <http://www.saudetotal.com.br>

Saville PD. Changes skeletal mass and fragility which castration in the rat: a model of osteoporosis. J Am Geriatric Soc 1969; 17: 155- 66.

Siqueira CPCM. Efeito do exercício aeróbico com carga na menopausa induzida por ooforectomia. Estudo clínico, biomecânico e histológico em ratas. [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2005.

Smith BA, Livesay GA, Woo SLY. Biology and biomechanics of the anterior cruciate ligament. Clin Sports Med 1993; 12: 637- 70.

Souza SMJ, Battistella LR. Osteoporose - imperativos, diagnóstico e terapêuticos. Acta Fisiátrica 1994; 1(1): 13- 8.

Thornycroft IH. Hormone replacement therapy. Dannemiller Memorial Educational Foundation, 1995. IN: Bossemeyer R. Aspectos Gerais do Climatério.(1991). IN: Fernandes, C. E., Melo, N.R., Wehba, S. Climatério Feminino - Fisiopatologia, Diagnóstico e Tratamento. São Paulo: Lemos Editorial, 1999; cap.:1. p.17- 33.

Tiveron MB. Estudo clínico, biomecânico e histológico do efeito da menopausa induzida por ooforectomia no tecido ósseo. Modelo experimental em ratas. [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2005.

Turner RT. Mechanical signaling in the development of postmenopausal osteoporosis. Lupus 1999; 8: 388- 92.

Uyeno ET, Graham RA. The effects of food deprivation of rats on swimming to exhaustion. Stanford Res Inst, Menlo Park, Calif., USA; 1965; 351-6.

Vogel HG. Influence of maturation and aging on biomechanical properties of connective tissue in rats. Mech Ageing Dev 1980; 14: 283- 92.

Wheba S, Azevedo LH, Fernandes EC. Orientações nutricionais no climatério. Reprod Clim 1996; 11(2): 70- 4.

Woolf AD, St. John Dixon A. Osteoporosis: a clinical guide. London: Martin Dunitz; 1998; 1-19.

Yamada A, Maruoka Y, Kumiko A et al. The effect of swimming on cartilage formation. J Nutr Sc Vit. 2002; 48(3): 238- 41.