



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO



---

**Educação Física**

---

**Bruno Rubin Cerri**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA CARTILAGEM  
ARTICULAR DO JOELHO EM RATAS WISTAR  
OVARIETOMIZADAS**

Rio Claro - SP  
2016

**BRUNO RUBIN CERRI**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NA CARTILAGEM  
ARTICULAR DO JOELHO EM RATAS WISTAR  
OVARIETOMIZADAS**

**Orientador:** PROF. DR. ADRIANO POLICAN CIENA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física.

**Rio Claro  
2016**

617.1027 Cerri, Bruno Rubin  
C417e Efeitos do exercício físico na cartilagem articular do  
joelho em ratas wistar ovariectomizadas / Bruno Rubin Cerri.  
- Rio Claro, 2016  
39 f. : il., figs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Educação  
física) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de  
Biociências de Rio Claro

Orientador: Adriano Polican Ciena

1. Medicina esportiva. 2. Cartilagem articular. 3. Joelho.  
4. Ovariectomia. 5. Natação. 6. Exercício físico. I. Título.

“Quem luta com monstros deve velar por que, ao fazê-lo, não se transforme também em monstro. E se tu olhares, durante muito tempo, para um abismo, o abismo também olha para dentro de ti”

- Friedrich Nietzsche

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Luciana A. R. Cerri e José E. Cerri, pois sem o investimento, a paciência e o apoio deles nada disso seria possível.

Amo vocês!

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador *Prof. Dr. Adriano Polican Ciena*, pela confiança, atenção, paciência, orientação, amizade e respeito. Muito obrigado!

Mais uma vez aos meus pais *Luciana Aparecida Rubin Cerri* e *José Eugênio Cerri*, por todo investimento e confiança dados durante todos esses anos, e também por todo apoio e carinho.

Aos meus avós maternos *Neide Aparecida de Andrade Rubin* e *Antônio Rubin* por todo apoio, incentivo e amor me dado durante todos esses anos.

Aos meus avós paternos *Tereza Ghiaro Cerri* e *Palmiro Cerri* pelo apoio e incentivo.

À minha namorada *Amanda Lombardo Fruehauf* pela paciência e estímulo.

À minha sogra *Magda Adelaide Lombardo* pela inspiração, exemplo e estímulo a seguir no meio acadêmico.

Aos meus amigos do LAMAF *Johann Simon Hoffmann*, *Gabriel Fávaro*, *Lara Caetano Rocha*, *Luan Sierra*, *Luis Roberto Bueno* por todos os momentos de alegria, companheirismo e apoio.

Ao meu amigo de longa data *Pedro Luiz Cipolla Júnior* pelos momentos de companheirismo, apoio e incentivo.

Aos meus amigos pelo apoio e incentivo *Wanglares Pedro Nadim Neto* e *Pedro Penacchioni Filho*.

## **AGRADECIMENTOS**

A Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, pela oportunidade de aprimoramento científico e profissional.

Ao professor Dr. Flávio Henrique Caetano pela confiança e por disponibilizar o uso do Laboratório de Histologia da UNESP de Rio Claro.

Aos técnicos do Laboratório de Morfologia José Roberto Rodrigues da Silva e Eduardo Custódio pelo suporte prestado.

Às técnicas do Laboratório de Histologia da Universidade de São Paulo Sônia Regina Yokomizo de Almeida e Marta Maria da Silva Righetti pelos ensinamentos, paciência e todo suporte prestado.

Aos funcionários do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro.

Aos funcionários da Biblioteca da UNESP de Rio Claro por todo suporte prestado.

Ao Laboratório de Anatomia Morfofuncional (VQM) pela confiança e por disponibilizar o uso de equipamentos.

## Resumo

A ovariectomia caracteriza-se pela remoção bilateral dos ovários, que acarreta na queda da produção dos hormônios sexuais e por sua vez faz com que o organismo fique suscetível à diversas alterações, dentre essas destacam-se o ganho de massa corporal e degeneração cartilágnea. A prática regular de exercícios físicos promove o aumento da massa muscular e redução da gordura corporal. Com o comprometimento da ação dos hormônios ovarianos, o exercício físico torna-se uma excelente prática para amenizar os efeitos deletérios na articulação do joelho. Foram utilizadas para este estudo 40 ratas *Wistar* adultas com três meses de idade divididas aleatoriamente em 4 Grupos (n=10): Sedentário (S), Treinado (T), Ovariectomizado (O) e Ovariectomizado e Treinado (OT). O procedimento cirúrgico-ovariectomia consistiu na remoção bilateral dos ovários dos grupos Ovariectomizado (O) e Ovariectomizado e Treinado (OT). O protocolo de treinamento – natação realizado diariamente, por 1 h, em 4 semanas com total de 20 sessões, com sobrecarga de 5% da massa corporal afixada ao tórax dos animais dos grupos Treinado (T) e Ovariectomizado e Treinado (OT). Os animais foram submetidos à eutanásia com overdose de anestésico, coletadas amostras e submetidas às técnicas histológicas para microscopia de luz: Hematoxilina-Eosina e Picrosírius e para microscopia eletrônica de varredura. Foi realizado mensuração periódica da massa corporal dos animais para acompanhar o seu estado de saúde. Com a análise dos componentes estruturais foi possível identificar pequenas deformações na cartilagem articular nos grupos ovariectomizados se comparado aos não ovariectomizados, além da notável diferença na espessura da cartilagem articular entre os grupos Sedentário (S) e Ovariectomizado (O) com os grupos Treinado (T) e Ovariectomizado e Treinado (OT). Na coloração de Picrosírius houve aumento da produção de colágeno nos grupos ovariectomizados (O e OT) se comparado a grupos que não passaram pela técnica cirúrgica -Ovariectomia (S e T). O grupo Ovariectomizado e Treinado (OT) se comparado com o grupo Ovariectomizado (O) teve uma maior produção de colágeno tipo II, a queda na produção dos hormônios sexuais auxilia no desequilíbrio da produção dos componentes da matriz extracelular que acarreta na maior produção de colágeno, que faz com que a cartilagem se torne rígida, porém menos resistente. Concluímos que a ovariectomia acarretou em amplas alterações morfológicas com maior produção de colágeno Tipo II e através do exercício físico proporcionou maior resistência na cartilagem articular ao demonstrar aumento expressivo de colágeno Tipo I. Além de ser possível identificar os aspectos tridimensionais da cartilagem articular através da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura.

**Palavras-chave:** cartilagem articular, joelho, ratas *Wistar*, ovariectomia, natação.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Alojamento dos animais (n=5) com água e ração “ <i>ad libitum</i> ” .....  | 22 |
| Figura 2 – Imagens Macroscópicas do procedimento cirúrgico – Ovariectomia.....  | 23 |
| Figura 3 – Centro de Treinamento Aquático.....  | 24 |
| Figura 4 – Animal durante uma sessão de treinamento com sobrecarga fixada ao tórax.....   | 24 |
| Figura 5 – Microscopia de Luz nas técnicas: Hematoxilina-Eosina, Picrosírius, Picrosírius (luz polarizada) e Microscopia Eletrônica de Varredura..... | 31 |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                              | <b>11</b> |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                   | <b>13</b> |
| <b>2.1. Cartilagem.....</b>                            | <b>14</b> |
| <b>2.2. Articulação.....</b>                           | <b>16</b> |
| <b>2.3. Ovários/ Ovariectomia.....</b>                 | <b>18</b> |
| <b>2.4. Treinamento Físico – Natação.....</b>          | <b>21</b> |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>                               | <b>22</b> |
| <b>2.1. Objetivos Gerais.....</b>                      | <b>23</b> |
| <b>2.2. Objetivos Específicos.....</b>                 | <b>23</b> |
| <b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                     | <b>24</b> |
| <b>3.1. Grupo Experimental.....</b>                    | <b>25</b> |
| <b>3.2. Procedimento Cirúrgico – Ovariectomia.....</b> | <b>26</b> |
| <b>3.3. Protocolo de Treinamento.....</b>              | <b>26</b> |
| <b>3.4. Microscopia de Luz.....</b>                    | <b>28</b> |
| <b>3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                              | <b>30</b> |
| <b>4.1. Microscopia de Luz.....</b>                    | <b>31</b> |
| <b>4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>5. DISCUSSÃO.....</b>                               | <b>33</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>                               | <b>37</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>              | <b>38</b> |





## 1. INTRODUÇÃO

Uma condição que ocorre com as mulheres em alguma fase de sua vida é a variação da função endócrina e reprodutiva, como por exemplo: durante a menopausa, que por sua vez alguns tipos de tecidos sofrem alterações morfológicas (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

O procedimento cirúrgico de ovariectomia, em modelos experimentais é utilizado para simular a menopausa, pois com a remoção bilateral dos ovários os níveis dos hormônios sexuais circulantes diminuem e os efeitos deletérios decorrentes dessa queda de produção hormonal sejam evidentes (CHANG et al., 2010).

Os efeitos deletérios de degeneração cartilágnea são evidentes, pois devido a alterações dos tipos de colágeno presentes nessa região faz com que a cartilagem se torne mais rígida, porém menos resistente, logo torna-se quebradiça (FONTINELE et al. 2013).

Como método para tratamento desses efeitos deletérios decorrentes da ovariectomia é indicado a prática regular de exercício físico, como por exemplo caminhada/corrida para os níveis iniciais e outras modalidades como por exemplo a natação em níveis avançados de degeneração cartilágnea, pois a natação pode ser realizada em média e alta intensidade sem que ocorra comprometimento do tecido devido à ausência de impacto (LAZAR et al., 2013)

Portanto, o exercício físico torna-se uma excelente ferramenta para que esses efeitos deletérios sejam minimizados na cartilagem articular, o que promove maior resistência e atenuação da degeneração cartilágnea.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CARTILAGEM

A cartilagem é um tipo tecido conjuntivo rígido que tem como principais funções a sustentação de tecidos moles e revestimento de superfícies articulares, além de ter papel fundamental na formação de ossos longos do feto e no desenvolvimento dos mesmos após o nascimento. As células do tecido cartilaginoso são conhecidas como condrócitos, células (cito) de cartilagem (condro), que se organizam de diferentes formas em 4 regiões distintas: Zona de fibras tangenciais; Zona de transição; Zona de fibras radiais e Zona de cartilagem mineralizada, presentes na cartilagem articular, além de secretarem matriz extracelular. Essas zonas representam a formação de novos condrócitos e o caminho até sua total maturação. Os novos condrócitos são produzidos através de condroblastos na Zona de cartilagem mineralizada, que está próxima do osso subcondral, até então não estão notadamente organizados. Como forma de transição da Zona de cartilagem mineralizada para a Zona de fibras radiais, existe uma marcação conhecida como marca d'água "*tidemark*", nesta nova zona as células começam a se organizarem e ficam alinhadas e formam pequenas linhas paralelas. Ao continuarem o processo maturacional os condrócitos passam para a zona de transição, onde perdem a linearidade e começam a se inclinar, como se fossem cruzar uns com os outros, até finalmente passarem para a última zona, a zona de fibras tangenciais, no qual formam uma pequena camada na porção distal da cartilagem articular (CLAASSEN et al. 2011; GANNON et al., 2012).

Devido às utilidades funcionais do organismo humano, consegue-se dividir o tecido cartilaginoso em três tipos: Fibrosa, Elástica e Hialina.

A cartilagem fibrosa tem como principal função a sustentação e união de estruturas, consiste em condrócitos dispersos entre feixes de fibras colágenas no interior da matriz extracelular, como por exemplo na sínfise púbica e nos discos intervertebrais. A cartilagem elástica tem como função dar sustentação e manter a forma, consiste em condrócitos localizados em uma rede filiforme de fibras elásticas no interior da matriz extracelular, como por exemplo na cobertura da porção superior da laringe e tubas auditivas (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

A cartilagem hialina é o tipo mais presente no corpo humano e devido a esse fator é o mais estudado. Sua constituição é basicamente fibrilas de colágeno do tipo II unidas ao ácido hialurônico, proteoglicanos muito hidratados, glicoproteínas e condrócitos na matriz extra-celular, estes terão como função ao longo da vida remodelar a estrutura da matriz (SALTER, 1998; FUJIOKA et al., 2013).

Na matriz da cartilagem hialina existem três classes importantes de moléculas que são: moléculas de colágeno, proteoglicanas e glicoproteínas de adesão múltipla. As moléculas de colágeno são as principais proteínas fibrilares da matriz que proporcionam maior resistentência. A cartilagem articular é nutrida e hidratada pelo líquido sinovial, além de ser um tecido avascular. A cartilagem possui consistência sólida, porém é um tipo de tecido com capacidade de resiliência, essa propriedade biomecânica é conhecida como elasticidade de compressão e isso se deve a interação das células de proteoglicanas com as fibras de colágeno. Existem cinco tipos de colágeno que participam na formação das fibrilas na matriz, o colágeno do Tipo II é o mais presente na matriz da cartilagem hialina, o Tipo IX é o que ajuda na interação das moléculas de proteoglicana da matriz com as fibrilas, o Tipo XI que controla o crescimento das fibrilas, o Tipo X é o responsável em organizar as fibrilas de colágeno em uma estrutura tridimensional em formato hexagonal e o Tipo VI que auxilia na ligação dessas células à estrutura da matriz cartilágínea hialínica. As moléculas de proteoglicanas são proteínas extracelulares ligadas às glicosaminoglicanas, além de terem como função dar rigidez a matriz, resistem à compressão e preenchem espaços. A retenção dos agregados na matriz de fibrilas de colágeno faz que a cartilagem hialina tenha propriedades biomecânicas únicas (VELOSA; TEODORO; YOSHINARI, 2003; ROSS; PAWLINA, 2008; CLAASSEN et al., 2011).

A disposição dos condrócitos na cartilagem articular pode ser dividido por regiões. Existem 4 regiões: região 1 ou região de fibras tangenciais, região 2 ou região de transição, região 3 ou região de fibras radiais e região 4 ou região de cartilagem mineralizada. O que diferencia uma região das outras é a disposição das células e o tipo de célula presente. A região 1 é mais superficial, composta de condrócitos tangencialmente alocados em relação aos condrócitos da região 3. Na região 2 ocorre a transição dos condrócitos da região 3 para a região 1. Na região 3 estão presentes os condrócitos recém-formados, dispostos perpendicularmente em relação aos da região 1. Entre as regiões 3 e 4 existe uma marcação denominada

marca d'água ou "*tidemark*" que delimita a transição da região 4, onde estão presentes condroblastos, para a região 3 onde os condrócitos já estão formados em sua forma final (CLAASSEN et al., 2011).

## 2.2 ARTICULAÇÃO

Articulação é o ponto de contato entre um conjunto de ossos, entre ossos e cartilagens ou entre dentes e ossos, que tem como finalidade unir um osso ao outro e que pode ou não permitir movimento. Porém, essa união entre os ossos pode variar: pouca, muita mobilidade ou nenhuma mobilidade. Para a classificação é considerado seus aspectos estruturais e funcionais. Estruturalmente a articulação pode ser classificada em 3 tipos: Articulação Fibrosa; Articulações Cartilaginosas e Articulações Sinoviais. A articulação fibrosa não possui cavidade sinovial e é caracterizado pela relação óssea por tecido conjuntivo fibroso. As articulações cartilaginosas também não possuem cavidade sinovial e se caracteriza com o contato de ossos através de cartilagem. A articulação sinovial diferente das anteriores possui cavidade sinovial entre os ossos que são unidos através de tecido conjuntivo denso e irregular, que forma a cápsula articular com auxílio de ligamentos acessórios. Pode-se classificar funcionalmente as articulações de acordo com o grau de movimento realizado e são divididas em 3 grupos: Sinartrose, Anfiartrose e Diartrose. A sinartrose caracteriza uma articulação imóvel, já a anfiartrose é caracterizada por pouca mobilidade e a diartrose representa as articulações com ampla mobilidade. Todas as articulações do tipo diartrose são articulações sinoviais (VAN DE GRAAFF, 2003).

As articulações fibrosas podem ser divididas em: Suturas, Sindesmoses e Gonfoses. A sutura é composta por uma fina camada de tecido conjuntivo denso que une por exemplo os ossos do crânio. Algumas dessas suturas com o processo maturacional são substituídos por tecido ósseo quando se atinge a idade adulta. As sindesmoses é um tipo de articulação fibrosa que fica entre os ossos, porém diferente da sutura ocupa maiores distâncias, como por exemplo a articulação tibiofibular distal, que une a tíbia com a fíbula. Outro tipo de articulação é a gonfose, que consiste quando uma estrutura em formato de cone se encaixa perfeitamente em uma depressão óssea, como único exemplo entre as raízes dos dentes com os

alvéolos dos processos da mandíbula e das maxilas. As articulações cartilaginosas não possuem cavidade sinovial e permitem pouco ou nenhum movimento e podem ser classificadas em: Sincondroses e Sínfise. As do tipo sincondrose é a articulação cartilaginosa que possui como tecido conjuntivo a cartilagem hialina além de sua classificação funcional ser sinartrose. Após o término do crescimento dos ossos, a cartilagem hialina é substituída por tecido ósseo e com isso se torna uma sinostose, como por exemplo o disco epifisiário que fica entre a epífise e a diáfase. A articulação do tipo sínfise é a ligação entre os ossos feita por discos planos de fibrocartilagem e possuem uma fina cobertura de cartilagem hialina. Todas as articulações do tipo sínfise estão presentes na linha média do corpo, como por exemplo a sínfise púbica. As articulações sinoviais permitem movimentos amplos e devido a isso são classificadas como diartroses. Os ossos presentes nesse tipo de articulação possuem suas extremidades recobertas por cartilagem articular, que na maioria das vezes é composta de cartilagem hialina e ocasionalmente por fibrocartilagem e nela não acontecerá o processo de ossificação. Essa região é polida, lisa e esbranquiçada e tem como principais funções absorver impactos e reduzir o atrito entre as extremidades durante a movimentação. A morfologia da articulação sinovial tem por base a superfície articular da mesma, classifica-se em: plano, gínglimo, trocóidea, elipsóidea, selar e esferóide. As articulações sinoviais do tipo plana, estão presentes em superfícies articulares planas ou ligeiramente encurvadas, como por exemplo nas articulações intercárpicas. O movimento que ocorre devido às articulações sinoviais planas é o de deslizamento lateral, porém não são axiais pois não permitem o movimento em torno de um eixo. A articulação sinovial do joelho é do tipo gínglimo pois a extremidade convexa de um osso encaixa-se na extremidade côncava de outro osso, são conhecidas como articulações em dobradiça e classificadas como monoaxiais, pois permitem movimentação sobre um único eixo. As articulações sinoviais em pivô estão entre uma superfície arredondada ou pontiaguda com um anel que pode ser formado por outro osso e parte por ligamento. É classificada como monoaxial pois permite rotação somente sobre o seu eixo longitudinal. Nas articulações sinoviais do tipo condilar, a projeção oval convexa de um osso é encaixada em uma depressão também oval, porém côncava de outro osso e são classificadas como biaxial pois permite movimento em torno de dois eixos, como por exemplo a articulação dos punhos. As articulações selares são encontradas quando a face articular de um osso

com forma semelhante à de uma sela de cavalo encaixa-se com outro osso, como por exemplo a articulação carpometacárpica. Além disso é uma articulação condilar modificada pois permite que o movimento seja mais livre. A articulação esferóide consiste em uma superfície esférica de um osso que se encaixa em uma depressão côncava de outro osso, além de serem multiaxiais pois consegue-se realizar movimentos em três eixos e em todas as direções, como por exemplo nas articulações do ombro e do quadril (TORTORA; DERRICKSON, 2012; DANGELO; FATTINI, 2011).

Na cápsula articular do joelho existe um espaço denominado cavidade articular que é onde se encontra o líquido sinovial ou sinóvia que é um líquido que auxilia na movimentação dos ossos. Encontra-se também na cápsula articular feixes de fibras que são conhecidos como ligamentos, que auxiliam na união e estabilização dos ossos. Os ligamentos capsulares têm como principal função aumentar a resistência da cápsula articular através das membranas fibrosas. Além dos ligamentos existe a membrana sinovial que é composta de tecido conjuntivo, que produz o líquido sinovial, essa membrana recobre a articulação móvel e livre e contém tecido conjuntivo areolar com fibras elásticas. O líquido sinovial ou sinóvia é um líquido com textura viscosa, com cores que podem variar entre transparente ou amarelo-pálido, do qual está presente ácido hialurônico em abundância. Algumas funções realizadas por ele são desde reduzir o atrito através da lubrificação de toda a articulação até fornecer nutrientes e remover resíduos metabólicos oriundos dos condrócitos (ROSIS; MASSABKI; KAIRALLA, 2010).

### **2.3 OVÁRIOS/OVARIECTOMIA**

Os ovários formam o par de órgãos sexuais primários femininos que possuem de três a quatro centímetros de comprimento e estão ligados ao útero e ao ligamento largo e fixados nas paredes laterais da pelve. Produzem os ovócitos (óvulos) e os hormônios sexuais, como o Estrógeno e a Progesterona. Além disso, produzem ovócitos secundários que são células que podem se desenvolver para óvulos maduros ou então em ovos caso ocorra a fertilização (TORTORA; DERRICKSON, 2012; DANGELO; FATTINI, 2011).

A camada de epitélio simples que reveste toda a superfície do ovário, denominada epitélio germinativo, é encontrada no córtex do ovário, área onde encontra-se tecido conjuntivo denso e está repleto de folículos ováricos. Estes têm a função de nutrir o ovócito em desenvolvimento, e conforme o folículo começa seu processo de maturação, começa a secretar Estrógeno. Durante a maturação esse folículo se tornará um folículo maduro, do qual estará pronto para romper-se e liberar um ovócito secundário que ficará alojado no endométrio. O que sobrou do folículo ovulado se desenvolve em um corpo amarelado, também conhecido como corpo lúteo. Este por sua vez produz Progesterona, Estrógeno, Relaxina e Inibina até que se degenere totalmente e se transforme em um tecido fibroso de nome corpo branco ou corpo albicans, que são células com característica cicatrizante (BABINSKI, 2012).

O estrógeno atua no controle do desenvolvimento das características sexuais secundárias da mulher, como por exemplo, o crescimento de pêlos pubianos e axilares, deposição de tecido adiposo nas coxas e nas nádegas e aumento dos seios. Além disso, o estrógeno estimula a síntese de proteínas em parceria com fatores de crescimento com insulina e hormônios tireóideos, e também diminuem o nível de colesterol no sangue (TORTORA; DERRICKSON, 2012; DANGELO; FATTINI, 2011).

A progesterona auxilia no desenvolvimento inicial do embrião e na implantação do ovócito fecundado (processo de nidação). Estes por sua vez sofrem influência direta da hipófise através de hormônios gonadotróficos. A progesterona atua em parceria com o estrógeno para preparar e manter o endométrio para que ocorra a implantação de um óvulo fertilizado e também para preparar as glândulas mamárias para produzir e então secretar leite (BABINSKI, 2012).

Nas mulheres ocorrem dois períodos significativos, que são a menarca e a menopausa. A menarca consiste na primeira menstruação da mulher, já a menopausa ocorre a cessação permanente da mesma. A menopausa ocorre por volta dos 50 anos de idade, e o que acontece é o esgotamento dos folículos ováricos que restaram, e devido a isso os ovários ficam menos propensos a responder à estimulação que recebem dos hormônios. A produção de estrógeno cai, mesmo com a grande produção de FSH (hormônio folículo estimulante, que é responsável pela maturação dos folículos ovarianos durante a ovogênese) e o LH (hormônio luteinizante, que causa a ovulação e transforma o folículo ovariano em corpo lúteo) pela adeno-hipófise. Alguns eventos encontrados no período pós-menopausa são

atrofia dos ovários, das tubas uterinas, útero, vagina, da genitália externa e das mamas. Devido às alterações é possível identificar a queda dos níveis de estrógeno, que acarreta em uma perda da densidade mineral óssea. (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

A ovariectomia é o processo cirúrgico do qual os ovários são removidos bilateralmente. A remoção dos ovários gera algumas mudanças, desde hormonais até redução de tamanho do útero. Ratas ovariectomizadas são modelos experimentais eficientes para demonstrar as reações que ocorrem no corpo humano feminino no período pós-menopausa, como a perda óssea (CHANG et al., 2010).

Algumas das alterações encontradas em indivíduos foram submetidos ao procedimento cirúrgico – ovariectomia se comparado com indivíduos que não foram, são: aumento significativo de peso corporal, redução do tamanho do útero, diminuição da produção de soro estradiol e a baixa concentração do mesmo no organismo após um período. A ovariectomia gera muito mais mudanças morfológicas, fisiológicas e histológicas do que simples alterações na produção de hormônios como o Estrógeno, Progesterona, LH e FSH (HØEGH-ANDERSEN et al., 2004; CHRISTGAU et al., 2004; OESTERGAARD et al., 2006; CHANG et al., 2010).

O metabolismo da cartilagem articular do joelho sofre influência pelo estrógeno, pois os condrócitos possuem receptores funcionais de estrógeno. A primeira mudança perceptível na cartilagem articular do joelho de ratas ovariectomizadas é o dano apresentado na região mais superficial (camada de tecido conjuntivo denso), redução drástica de proteoglicanas e morte de condrócitos. Com a diminuição na produção de estrógeno, conseqüentemente a produção de colágeno Tipo II aumenta e isso faz com que a cartilagem fique mais dura, porém menos resistente no ponto de vista mecânico, a degradação do colágeno é o principal fator patogênico que faz com que ocorram danos em regiões superficiais. Na camada de tecido conjuntivo denso (região mais superficial), a falta de estrógeno faz com que tenha um aumento na espessura da camada, mantém a quantidade de condrócitos presentes, porém reduz o volume dos núcleos dos condrócitos. Pode-se evidenciar que o estrógeno faz com que ocorra efeitos “condroprotetores” através da inibição eficaz da degradação de colágeno tipo II, mesmo que ocorra tratamentos com reposição de estrógeno, o tecido degenerado não se restaura. A falta de estrógeno influencia em camadas mais superficiais, onde age na espessura da camada de tecido conjuntivo denso e no volume do núcleo dos condrócitos. A

prática regular de exercícios físicos faz com que estes efeitos sejam amenizados (CALVO et al., 2006; OESTERGAARD et al., 2006; FONTINELE et al., 2013).

## **2.4 TREINAMENTO FÍSICO - NATAÇÃO**

Foi escolhido como protocolo de treinamento a natação, pois é uma atividade que vários tipos de público podem participar ativamente. Estudos recentes mostraram que a prática regular de natação tem menor mortalidade em diversas de causas se comparado com grupos sedentários, grupos que fazem caminhada ou corrida, além disso, a natação pode ser praticada em níveis iniciais e avançados de degeneração cartilágnea sem que haja comprometimentos maiores na camada epifisial se comparado com a caminhada/corrída que é aconselhado a ser praticado apenas nos níveis iniciais. A prática regular de natação é benéfica pois auxilia em diversos aspectos, como por exemplo: na redução de tecido adiposo, aumento do débito cardíaco e extremamente indicado para indivíduos que possuem problemas nas articulações. Outro fator que influencia são as condições controladas da piscina associada com temperaturas mais quentes ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) (LOESER, 2000; LAZAR et al., 2013).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), indica a prática de exercícios aeróbicos como a natação para que diminua a probabilidade de desenvolver alguma condição negativa no coração, além de diminuir a pressão sanguínea, principalmente em indivíduos que possuem pressão alta (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

Diante das evidências encontradas na literatura, espera-se que com a aplicação de um protocolo de treinamento (natação) os efeitos deletérios decorrentes da ovariectomia na cartilagem articular do joelho, degeneração cartilágnea, aumento na produção de colágeno Tipo II e aumento da massa corporal sejam minimizados.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste estudo consistiu em analisar as características morfológicas da cartilagem articular do joelho de ratas *Wistar* ovariectomizadas submetidas ao protocolo de natação.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar as características estruturais da cartilagem articular do joelho através das técnicas de microscopia de luz;
- Descrever os aspectos tridimensionais da cartilagem articular através do método de Microscopia Eletrônica de Varredura.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 GRUPO EXPERIMENTAL

Foram utilizadas 40 ratas *Wistar* adultas, com 3 meses de idade e massa corporal entre 200-250g, organizadas em 4 Grupos (n=10):

- **Sedentário (S)**: animais que não foram submetidos ao processo cirúrgico e ao protocolo de treinamento;
- **Treinado (T)**: animais que não foram submetidos ao processo cirúrgico, porém submetidos ao protocolo de treinamento;
- **Ovariectomizado (O)**: animais submetidos ao processo cirúrgico, porém não submetidos ao protocolo de treinamento;
- **Ovariectomizado/Treinado (OT)**: animais submetidos ao processo cirúrgico e ao protocolo de treinamento.

Todos os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu-SP e mantidos em gaiolas coletivas no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro-SP. Foi utilizada ração balanceada padrão (Purina) e água “*ad libitum*”, distribuídas 5 ratas em cada gaiola (Figura 1) com temperatura ambiente controlada de  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  e foto período de claro/escuro de 12 horas. Todos os procedimentos adotados no estudo foram previamente submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Rio Claro-SP (Protocolo nº: 9594).



Figura 1. Alojamento dos animais (n=5) com água e ração “*ad libitum*”.

## 4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO – OVARIECTOMIA

Os animais dos Grupos O e OT foram previamente anestesiados via intraperitoneal com Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg/kg), em seguida foi realizada a tricotomia e a assepsia cutânea da região ventral do abdôme. Com auxílio de um bisturi a parede abdominal foi seccionada longitudinalmente através de laparotomia mediana (1cm) para que os ovários fossem expostos e dissecados. Após a dissecação foi realizada a sutura por planos, desde a parede muscular até à cutânea (fio de sutura nylon nº 6.0) (Figura 2). Após a sutura foi realizada a assepsia no local da incisão cirúrgica 3 vezes ao dia durante 7 dias, colocados em gaiola esterilizadas e foram administrados Paracetamol (300mg/kg) durante 4 dias no período pós-operatório (CHANG et al., 2010; FONTINELE et al., 2013; FERRETTI et al., 2014).



**Figura 2.** Imagens Macroscópicas do procedimento cirúrgico – Ovariectomia **A:** tricotomia do local seguido de laparotomia mediana ( $\pm 1$ cm). **B:** Exposição dos ovários (setas) para dissecação.

## 4.3 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

Os animais dos Grupos T e OT foram submetidos ao protocolo de treinamento (natação) com início após o 30º dia pós-operatório, em tanques aquáticos, durante 60 minutos, separados individualmente por tubos de PVC (Cloro de Polivinila) com 24 cm de diâmetro, 50cm de profundidade, para evitar aglomeração e dispersão em água aquecida a 31°C (Figura 3).



**Figura 3.** Centro de Treinamento Aquático do Biotério da UNESP – Rio Claro. **A:** Tanque aquático para treinamento dos animais dos grupos T e OT. **B:** Tubo de PVC utilizado para que não ocorra aglomeração nem dispersão dos animais dos grupos submetidos ao treinamento.

O protocolo de treinamento – natação foi realizado diariamente, com duração de 1h, durante 4 semanas com total de 20 sessões, com sobrecarga de 5% da massa corporal afixada ao tórax do animal (Figura 4) (CIABATTARI; DAL PAI e DAL PAI, 2005; LOESER, 2000; PESTANA et al., 2012).



**Figura 4.** Animal durante uma sessão de treinamento com sobrecarga fixada ao tórax (seta).

#### **4.4 MICROSCOPIA DE LUZ**

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental previamente eutanasiados com overdose de anestésico, dos quais obtiveram-se amostras do joelho através da dissecação. As amostras foram fixadas em formol 10%, posteriormente foram descalcificadas com ácido nítrico 5%, durante 16 dias, após esta etapa, foram submetidas à desidratação em séries crescentes de álcoois (70% ao 100%) e posteriormente diafanizadas em Xilol e posteriormente incluídas em blocos de parafina histológica. Foram realizados cortes sagitais de 7 µm de espessura no Micrótomo Leica® Wetzlar do Laboratório de Biodinâmica da UNESP de Rio Claro – SP. Imediatamente após coleta dos cortes, estes foram colocadas em banho histológico onde permaneceram até que fossem coletados por lâminas (New Optics® 710 5A fosca lapidada). Após esse processo as lâminas que estavam posicionadas em bases de madeira, foram colocadas em estufa (Fanem® 315 SE) à 60°C onde permaneceram por 48 horas. Ao final desse período, as lâminas foram separadas para que fossem realizadas as diferentes técnicas de coloração: Hematoxilina-Eosina, Picrosírius e Tricômio de Goldner. As lâminas foram previamente analisadas em microscópio Leica DM-500 e posteriormente fotodocumentadas no microscópio Leica DM 2000, com o auxílio do Software LAS v.3.7 ambos no Laboratório de Histologia do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro-SP.

#### **4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA**

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental previamente eutanasiados com overdose de anestésico. Em sequência obtiveram-se amostras de ambos os grupos experimentais através da dissecação. Fixaram-se as amostras em formol 10% durante 48 horas e descalcificou-as com ácido nítrico 5% durante 16 dias, após esta etapa, as peças foram seccionadas em 3 partes no plano sagital. Posteriormente, todas as amostras foram submetidas à desidratação em séries crescentes de álcoois (70% ao 100%) e em Acetona (100%), posterior a essa etapa as amostras foram secadas em aparelho ponto-crítico (Balzers CPD-30), com

utilização de CO<sub>2</sub> líquido. As amostras foram montadas em bases metálicas apropriadas e cobertas com íons de ouro no aparelho (Balzers SCD-040), e examinadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura TM-3000 Hitachi da UNESP Rio Claro - SP (WATANABE, OGAWA; YAMANDA, 1989; BOLINA et al. 2013).



## 5. RESULTADOS

### 5.1 MICROSCOPIA DE LUZ

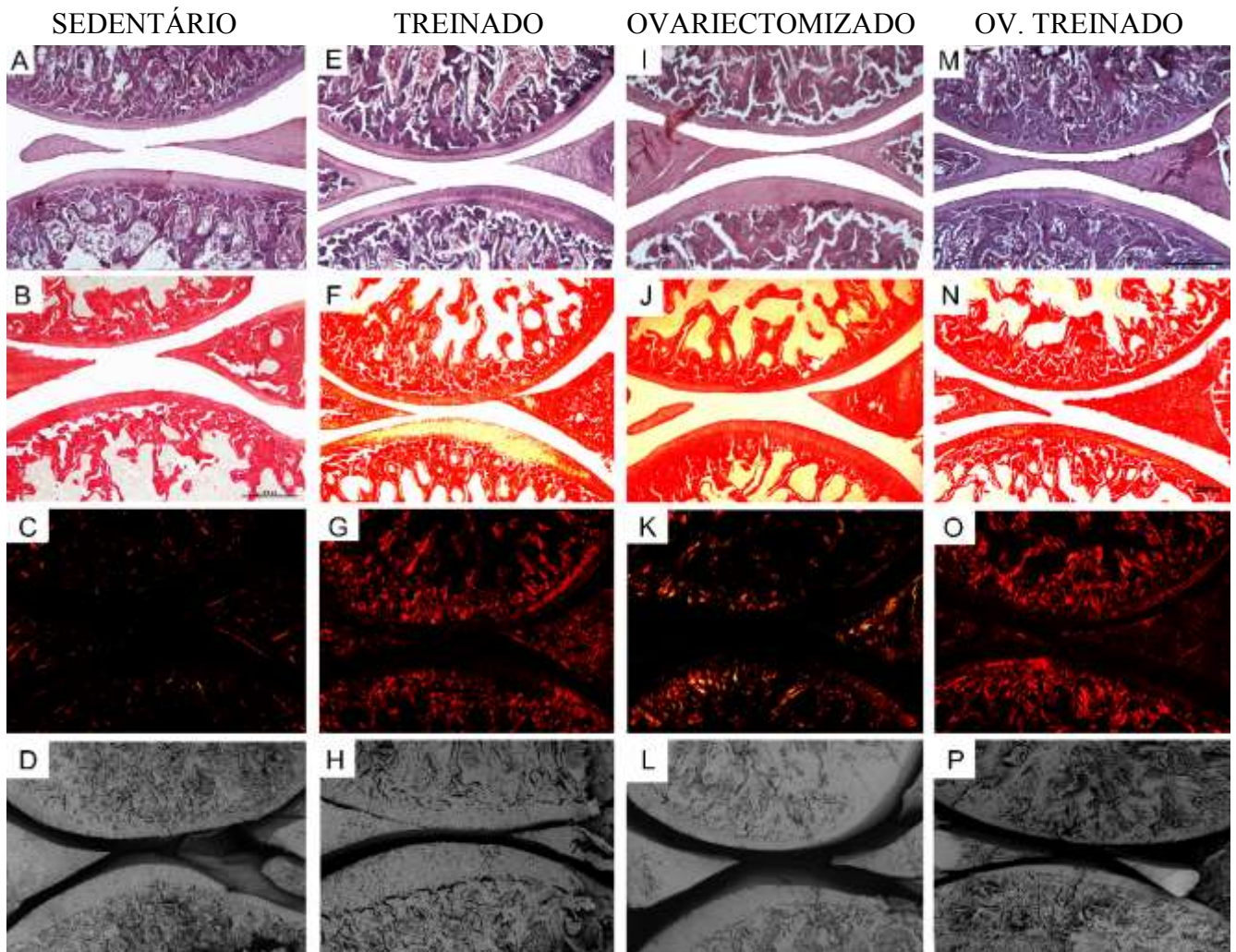
Nas imagens obtidas através das técnicas histológicas foram possíveis identificar as seguintes estruturas: cartilagem articular (CA), parte anterior e posterior do menisco (M), osso subcondral (\*) e as regiões da cartilagem articular (zona de fibras tangenciais, zona de fibras de transição, zona de fibras radiais e zona de cartilagem mineralizada) e a marca d'água (*tidemark*).

Nas amostras coradas com Hematoxilina-Eosina foram possíveis identificar os condrócitos e sua disposição e organização na cartilagem articular, desde sua formação (condroblastos) na zona de cartilagem mineralizada até as camadas mais superficiais na zona de fibras tangenciais. Os grupos que foram submetidos ao protocolo de treinamento (T e OT) demonstraram uma melhor organização dos condrócitos se comparado aos grupos que não foram submetidos ao protocolo.

Para analisar os tipos de colágenos presentes na estrutura e se houve influência do exercício físico na articulação do joelho foi realizada a técnica histológica Picrosírius e fotografada em microscópio de luz polarizada. Observaram-se predominantemente dois tipos de colágeno, Tipo I em coloração avermelhados e amarelados e Tipo II com tonalidades esverdeadas. No Grupo Sedentário foi possível observar predominância de tonalidades avermelhadas devido ao colágeno Tipo I, mas em pequena quantidade se comparado aos grupos Treinado e Ovariectomizado e Treinado. No Grupo Treinado houve grande predominância de tonalidades avermelhadas, o que indica forte presença de colágeno Tipo I na cartilagem articular. No grupo Ovariectomizado consegue-se observar predominância de tons avermelhados devido a presença de colágeno Tipo I e de tons amarelados e esverdeados devido ao colágeno Tipo II. Nos animais do Grupo Ovariectomizado e Treinado pode-se observar grande predominância de tons avermelhados devido a presença de colágeno Tipo I.

## 5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A utilização da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura revelou os aspectos tridimensionais, através do reflexo de elétrons, nas superfícies articulares internas do joelho. Foram possíveis identificar as estruturas: Linha epifisial, cápsula articular, membrana sinovial, região distal dos côndilos do fêmur, região proximal dos côndilos da tíbia, osso subcondral, cartilagem articular, meniscos, 3 zonas cartilagueas (Superficial, Média e Profunda), condrócitos. Como pode ser observado na Figura 5.



**Figura 5.** Fotomicrografias dos Grupos: Sedentário, Treinado, Ovariectomizado e Ovariectomizado nas técnicas Microscopia de Luz: Hematoxilina-Eosina (A, E, I e M) e Picrosírius (B, F, J e N) e Microscopia Eletrônica de Varredura (D, H, L e P). As imagens C, G, K e O representam as amostras coradas com Picrosírius visualizadas através de luz polarizada para identificação do tipo de colágeno (Vermelho/Amarelo – colágeno tipo I, Verde – colágeno tipo II) presente na cartilagem articular. Ampliação: Microscopia de Luz 20x / Microscopia Eletrônica de Varredura: 40x.



## 6. DISCUSSÃO

Neste estudo foram analisadas e descritas a estrutura e aspecto tridimensional da cartilagem articular do joelho de ratas *Wistar* ovariectomizadas submetidas à um protocolo de natação.

Os ovários de acordo com Babinski (2012), formam o par de órgãos sexuais primários da mulher e estes por sua vez produzem os ovócitos (óvulos) e os hormônios sexuais, como o Estrógeno e a Progesterona. Estes hormônios tem papel importante no corpo feminino, pois o estrógeno atua no controle do desenvolvimento das características sexuais secundárias da mulher, como por exemplo, o crescimento de pêlos pubianos e axilares, deposição de tecido adiposo nas coxas e nas nádegas e aumento dos mamas, estimula a síntese de proteínas em parceria com fatores de crescimento com insulina e hormônios tireóideos e diminui o nível de colesterol no sangue, já a progesterona auxilia no desenvolvimento inicial do embrião e na implantação do ovócito fecundado (processo de nidação). Estes por sua vez sofrem influência direta da hipófise através de hormônios gonadotróficos. A progesterona atua em parceria com o estrógeno para preparar e manter o endométrio para que ocorra a implantação de um óvulo fertilizado e também para preparar as glândulas mamárias para produzir e secretar leite.

Após 4 semanas, notou-se o que a ovariectomia reduz consideravelmente a quantidade circulante destes hormônios sexuais que contribuem para que ocorra a homeostasia corporal corroborando com o estudo de Fontinele et al. (2013).

Segundo os estudos de Lazar et al. (2013), Endlich et al. (2013), Kavlak et al. (2014) e Wang et al. (2014) foi demonstrado que o exercício físico proporciona benefícios ao organismo, como aumento do débito cardíaco, maior retorno venoso, melhora da capacidade aeróbia e redução de tecido adiposo.

Na articulação sinovial do joelho, é possível identificar diversas estruturas presentes dentro da cápsula articular, para complementar os elementos nas imagens de MEV, foi realizado a técnica histológica de coloração com Hematoxilina-Eosina, do qual foi possível identificar de forma mais clara a disposição dos condrócitos presentes na cartilagem articular, que segundo Fontinele et al. (2013) são separados em 4 zonas diferentes: superficial, média, profunda e calcificada, porém Claassen et al. (2011) classificou como zona de fibras tangenciais (equivalente a zona

superficial), zona de transição (equivalente a zona média), zona de fibras radiais (equivalente a zona profunda) e zona de cartilagem mineralizada (equivalente a zona calcificada), e ambos autores concordaram que entre a zona de fibras radiais ou zona profunda e a zona de cartilagem mineralizada ou zona calcificada existe uma linha de transição denominada *tidemark* ou marca d'água que segundo Claassen et al. (2011) é uma linha lisa e totalmente calcificada.

Como observado na Figura 5, o grupo O houve maior produção de colágeno tipo II (amarelo/esverdeado), além de leve mudança para colágeno tipo III (verde), com diminuição da incidência de colágeno tipo I (avermelhado), essas alterações se devem segundo Montes (1996) pois o colágeno de tipo III representam um colágeno em seu formato inicial, muito presente na fase de desenvolvimento fetal, do qual são substituídas por fibras colágenas do tipo I após um desenvolvimento maturacional. Houve um maior aumento na produção de colágeno tipo II e tipo III em grupos que passaram pela ovariectomia se comparado a grupos que não passaram por esse procedimento, além do grupo ovariectomizado e treinado ter uma maior produção de colágeno Tipo I se comparado com o grupo apenas ovariectomizado, corroborando com os achados de Fontinele et al. (2013). Ao comparar o grupo O com o grupo OT, observa-se a diferença na incidência dos tipos de colágeno, no grupo OT é possível observar os efeitos positivos do protocolo de treinamento, onde a predominância de colágeno Tipo I foi grande, porém ao observar o outro grupo submetido ao procedimento cirúrgico – ovariectomia mas sem realizar o protocolo de treinamento (grupo O), ouve grande predominância de tons amarelados e esverdeados, colágeno Tipo II e III, e com pouca predominância de tons avermelhados (colágeno Tipo I). Ao compararmos os grupos T e OT, pode-se observar grande semelhança nos tons avermelhados presentes na cartilagem articular, o que demonstra a eficiência do protocolo de treinamento ao praticamente deixar semelhante estruturas que não foram afetadas com estruturas que foram afetadas pelo cessamento quase total dos hormônios estrógeno e progesterona, Fontinele et al. (2013) sugere que o estrógeno aparenta ser fundamental para que ocorra um equilíbrio na produção dos componentes da matriz extracelular em quantidades adequadas. E muito provavelmente devido à queda da produção hormonal consequentemente ocorre maior produção de colágenos tipo II e III principalmente, que faz com que a cartilagem se torne mais rígida e menos resistente, como encontrado nos grupos S e O. As moléculas de colágeno são segundo Claassen et al. (2011) a principal proteína

fibrilar da matriz que faz com que o tecido ganhe resistência, além de segundo Bolina et al. (2013) serem continuamente remodelados durante a fase de crescimento e desenvolvimento, onde ocorrem substituições de colágeno, como por exemplo do colágeno tipo I para o colágeno tipo II, que é o tipo mais maduro de colágeno. Existem cinco tipos de colágeno que participam na formação das fibrilas na matriz, o colágeno do tipo II é o mais presente na matriz da cartilagem hialina, o tipo IX é o que ajuda na interação das moléculas de proteoglicana da matriz com as fibrilas, o tipo XI que controla o crescimento das fibrilas, o tipo X é o responsável em organizar as fibrilas de colágeno em uma estrutura tridimensional em formato hexagonal e o tipo VI auxilia na ligação dessas células à estrutura da matriz cartilaginosa hialínica. Devido à grande quantidade de colágeno tipo II presente na matriz, pode-se observar a influência direta da ovariectomia, do exercício físico e da ovariectomia atrelada ao exercício físico na produção desse tipo de colágeno através da coloração de Picrosírius, onde só é observado através de microscópio de luz polarizada.

Através da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura através da secção no plano sagital, foi possível observar os elementos estruturais do joelho, dentre elas: articulação, cápsula articular, cartilagem articular, menisco, osso subcondral, extremidade distal dos côndilos do fêmur, extremidade proximal dos côndilos da tíbia. Devido a isso, Salter et al. (1998) e Claassen et al. (2011) classificaram a cartilagem como um tecido conjuntivo rígido que tem como principais funções a sustentação de tecidos moles e revestimento de superfícies articulares. As utilidades funcionais do organismo humano segundo Matzat et al. (2014) descreveu que o tecido cartilaginoso é dividido em três tipos: Hialina, Elástica e Fibrosa. E sua constituição é basicamente de fibrilas de colágeno do tipo II unidas ao ácido hialurônico, proteoglicanos muito hidratados, glicoproteínas e condrócitos na matriz extra-celular, que terão como função ao longo da vida remodelar a estrutura da matriz. Claassen et al. (2011) afirma que o joelho consiste de uma articulação sinovial do qual é ligado através de tecido conjuntivo denso, não são modeladas e tem associação com ligamentos acessórios. Através da secção no plano sagital, conseguimos observar a cavidade articular que Fujioka et al. (2013) afirma ser um espaço existente dentro da cápsula articular onde é encontrado o líquido sinovial, que auxilia na movimentação dos ossos. Todo o envoltório das superfícies

articulares recebe o nome de cartilagem articular e Gannon, Nagel e Kelly (2012) declararam ser uma região polida, lisa e esbranquiçada, composta de cartilagem hialina e é onde ocorre o processo de ossificação e tem como principais funções absorver impactos e reduzir o atrito entre as extremidades.

## **7. CONCLUSÃO**

Concluimos que a ovariectomia acarretou em amplas alterações morfológicas com maior produção de colágeno Tipo II e através do exercício físico proporcionou maior resistência na cartilagem articular ao demonstrar aumento expressivo de colágeno Tipo I. Além de ser possível identificar os aspectos tridimensionais da cartilagem articular através da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BABINSKI, M.A. Anatomia dos ovários: considerações clínico-patológicas. **Acta Scientiae Medica**, v. 5, p. 43-52, 2012

BOLINA, C. S.; MATOS, R. S. B.; ALVES, P. H. M; CURY, D. P.; CIENA, A. P.; WATANABE, L. Three-Dimensional Aspects of the Structural Characteristics and Kidney Angioarchitecture of Adult and Aged Wistar Rats: A Scanning Electron Microscopy Study. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, p. 538-544, 2013.

CALVO, E.; CASTAÑEDA, S.; LARGO, R.; FERNÁNDEZ-VALLE, M. E.; RODRÍGUEZ-SALVANÉZ, F.; HERRERO-BEAUMONT, G. Osteoporosis increases the severity of cartilage damage in an experimental model of osteoarthritis in rabbits. **OsteoArthritis and Cartilage**. v. 15. p. 69-77, 2007.

CHANG, T.; HUANG, C.; HUANG, C.; CHEN, H.; CHENG, C. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats. **BMC Musculoskeletal Disorders**. v. 11, p. 185, 2010.

CHRISTGAU, S.; TANKÓ, L.B.; CLOOS, A.C.; MOURITZEN U.; CHRISTIANSEN, C.; DELAISSÉ, J.; HØEGH-ANDERSEN, P. Suppression of elevated cartilage turnover in postmenopausal women and in ovariectomized rats by estrogen and a selective estrogen-receptor modulator (SERM). **Menopause: The Journal of The North American Menopause Society**, v. 11, nº 5, p. 508-518, 2004.

CIABATTARI, O.; DAL PAL, A.; DAL PAL, V. Efeito da natação associado a diferentes dietas sobre o músculo tibial anterior do rato: estudo morfológico e histoquímico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, nº2, 2005.

CLAASEN, H.; SCHICHT, M.; PAULSEN, F. Impact of sex hormones, insulin, growth factors and peptides on cartilage health and disease. **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, v. 45, p.239-293, 2011.

DANGELO, J.G.; FATTINI, C. A. **Anatomia Humana: Sistêmica e Segmentar**. 3 ed. revista. São Paulo: Atheneu, 2011. 757p.

ENDLICH, P.W.; CLAUDIO, E.R.G.; GONÇALVES, W.L.S.; GOUVÊA, S.A.; MOYSÉS, M.R.; ABREU, G.R. Swimming training prevents fat deposition and decreases angiotensinIII-induced coronary vasoconstriction in ovariectomized rats. **Peptides**, v. 47, p. 29-35, 2013.

FERRETTI, M.; CAVANI, F.; MANNI, P.; CARNEVALE. G.; BERTONI, L.; ZAVATTI, M.; PALUMBO, C. Ferutinin dose-dependent effects on uterus and mammary gland in ovariectomized rats. **Histology and Histopathology**. v. 29, p. 1027-1037, 2014.

FONTINELE, R. G.; MARIOTTI, V. B.; VAZZOLERE, A. M.; FERRÃO, J. S. P.; JUNIOR, J. R. K.; SOUZA, R. R. Menopause, Exercise, and Knee. What Happens? **Microscopy Research and Technique**. v. 76, p. 381–387, 2013.

FUJIOKA, R.; AOYAMA, T.; TAKAKUWA, T. The layered structure of the articular surface. **Osteoarthritis and Cartilage**. v. 21, p.1092-1098, 2013

GANNON, A.R.; NAGEL, T.; KELLY D.J. The role of the superficial region in determining the dynamic properties of articular cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 20, p. 1417-1425, 2012

HØEGH-ANDERSEN, P.; TANKÓ, L. B.; ANDERSEN, T.L.; LUNDBERG, C.V.; MO, J.A.; HEEGAARD, A.; DELAISSÉ, J.; CHRISTGAU, S. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. **Arthritis Research Therapy**, v. 6 p. 169-180, 2004.

JUNQUEIRA, L.C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissues sections. **The Histochemical Journal**, v. 11, nº 4, p. 447-455, 1979.

KAVLAK, E.; BELGE, F.; ÜNSAL, C.; ÜNER, A.G.; CAVLAK, U.; ÇÖMLEKÇİ, S. Effects of Pulsed Electromagnetic Field and Swimming Exercise on Rats with Experimental Sciatic Nerve Injury. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 26, p. 1355–1361, 2014.

LAZAR, J. M.; KHANNA, N.; CHESLER, R.; SALCICCIOLI, L. Swimming and the heart. **International Journal of Cardiology**, v. 168, p. 19-26, 2013.

LOESER, R.F. Aging and the etiopathogenesis and treatment of osteoarthritis. **Rheumatic Diseases Clinics of North America**, v. 26, nº 3, p. 547-567, 2000.

MATZAT, S.J.; KOGAN, F.; FONG, G.W.; GOLD, G.E. Imaging Strategies for Assessing Cartilage Composition in Osteoarthritis. **Current Rheumatology Reports**, v. 16, nº 11, p. 462-478, 2014.

MONTES, G. S. Structural Biology of the fibers of the collagenous and elastic systems. **Cell Biology International**, v.20, p. 15-27, 1996.

OESTERGAARD, S.; SONDERGAARD, B. C.; HØEGH-ANDERSEN, P.; HENRIKSEN, K.; QVIST, P.; CHRISTIANSEN, C.; TANKÓ, L. B.; KARSDAL, M. A. Effects of Ovariectomy and Estrogen Therapy on Type II Collagen Degradation and Structural Integrity of Articular Cartilage in Rats: Implications of the Time of Initiation. **Arthritis & Rheumatism**, v.54, n. 8, p 2441–2451, 2006.

PESTANA, P.R.D.; ALVES, A.N.; FERNANDES, K.P.S.; JUNIOR, J.A.S.; FRANCA, C.M.; MARTINS, M.D.; BUSSADORI, S.K.; FERRARI, RA.M. Efeito da natação na expressão de fatores Regulatórios miogênicos durante o reparo do musculo esquelético de rato. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.18, nº 6, p. 419-422, 2012.

ROSIS, R. G.; MASSABKI, P. S.; KAIRALLA, M. Osteoartrite: avaliação clínica e epidemiológica de pacientes idosos em instituição de longa permanência. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v.8, n.2, p.101-108, 2010.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia: Texto e Atlas. Em correlação com a biologia celular e molecular**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008. 908p.

SALTER, D. M. The Tissues We Deal With Cartilage. **Current Orthopaedics**, v. 12, p. 251-257, 1998

SANDELL L.J.; HEINEGARD D.; HERING, T.M. Cell biology, biochemistry, and molecular biology of articular cartilage in osteoarthritis. **Osteoarthritis**, p.73-106, 2007.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 8ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 684p.

VAN DE GRAAFF, K. M. **Anatomia Humana**. 6ed. Barueri: Manole, 2003. 840p.

VELOSA, A. P. P.; TEODORO, W. R.; YOSHINARI, N. H. Colágeno na cartilagem osteoartrótica. **Revista Brasileira Reumatologia**. v. 43, n. 3, p. 160-166, 2003.

WANG, X.; NIU, C.; LU, J.; LI, N.; LI, J. Hydrolyzed protein supplementation improves protein content and peroxidation of skeletal muscle by adjusting the plasma amino acid spectrums in rats after exhaustive swimming exercise: a pilot study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 11, n.5, 2014.

WATANABE, I.; OGAWA, K.; YAMADA, E. Rabbit parotid gland acini as revealed by scanning electron microscope. **Ciências e Cultura**, v. 41, n. 3, p. 284-287, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Recommendations on Physical Activity for Health. **WHO Press**. v.92, n. 4 p.159-997, 2010.