

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ARAÇATUBA - FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

RONALDO ANDERSON DE MEDEIROS

**Influência da obesidade sobre o tecido ósseo de *Rattus norvegicus albinus*
idosos, submetidos à suspensão pela cauda e ao exercício resistido**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do *campus* de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção do título de “Mestre em Ciências Fisiológicas”.
Orientador: Prof. Adj. Mário Jefferson Quirino Louzada

Araçatuba

2014

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba**

Ronaldo Anderson de Medeiros

**Influência da obesidade sobre o tecido ósseo de *Rattus norvegicus albinus*
idosos, submetidos à suspensão pela cauda e ao exercício resistido**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação Multicêntrico em Ciências
Fisiológicas para obtenção do título de
Mestre em Ciências Fisiológicas
Área de Concentração: Fisiologia
Orientador: Prof. Adj. Mário Jefferson
Quirino Louzada

Araçatuba

2014

Agradecimentos

À UNESP – Universidade Estadual Paulista e ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas.

À meu pai, minha mãe e meu irmão, por seu amor incondicional, por me apoiarem sempre em todos os momentos de minha vida e acreditar em mim neste mestrado.

À minha esposa Wanderléia, por trazer grande felicidade em minha vida e ser sempre minha companheira e parceira em todos os momentos, sempre me apoiar e compreender a importância deste mestrado para mim.

À todos os colegas de laboratório, em especial para a Bruna, Pedro e Melise, por serem tão importantes em fases cruciais deste trabalho. Não esquecendo os demais colegas, como a Kaká, pelas trocas da sacarose, Márcio, e Wellington, pelos “insights” de física.

Aos professores da FOA e da FMVA, em especial à Profa. Ana Cláudia Nakamune e Profa. Rita Dornelles, por todos os ensinamentos, correções e sugestões em meu projeto.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa concedida, à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão do auxílio financeiro à pesquisa e à Pró-Reitoria de pós-graduação da UNESP (PROPG-UNESP) pelo apoio financeiro nas viagens para realização das disciplinas.

Agradecimento Especial

Um agradecimento todo especial ao meu orientador professor Mário Jefferson Quirino Louzada, por ser, não somente meu orientador, mas também um grande tutor pra mim. Uma pessoa que aprendi a gostar e respeitar muito, não apenas profissionalmente como um cientista que possui um grande conhecimento, mas também como um exemplo de pessoa, e um jeito de ser que cativa a todos, tornando o ambiente de trabalho sempre gostoso e divertido. Este mestrado é uma época de minha vida que sempre guardarei e lembrarei com muita felicidade e muito carinho.

Muito obrigado por tudo! Mesmo nos “puxões de orelha” nos momentos necessários. Você sempre me tratou muito bem, me amparou, me apoiou e me compreendeu em todos os momentos que precisei.

Você tem minha eterna gratidão e amizade!

MEDEIROS, R.A., Influência da obesidade sobre o tecido ósseo de *Rattus norvegicus albinus* idosos, submetidos à suspensão pela cauda e ao exercício resistido. 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

Resumo

Neste estudo foram avaliados os efeitos que a obesidade, induzida pelo consumo de sacarose, proporciona no tecido ósseo de ratos Wistar machos idosos, em duas situações opostas: em sedentarismo extremo e com realização de exercícios de força. O sedentarismo foi induzido pela suspensão pela cauda, simulando situações de pouca ou nenhuma carga nos membros pélvicos e os exercícios foram realizados em escada adaptada. Foram estudados 54 ratos machos com 16 meses de idade. Ao completarem 13 meses de idade, 27 ratos foram aleatoriamente selecionados para receberem dieta rica em sacarose durante 3 meses. Foram realizadas análises com o densitômetro DXA para a mensuração do conteúdo mineral ósseo, área e densidade mineral óssea nos fêmures e tíbias; Ensaio mecânico de compressão da cabeça do fêmur, compressão da tíbia e compressão do osso cortical e análises imunoistoquímica com marcações para OCN e TRAP. Os resultados mostraram que os animais obesos que realizaram exercícios obtiveram melhora significativa no CMO dos fêmures, ao passo que os animais não obesos que realizaram exercícios obtiveram melhora no CMO dos fêmures e tíbias, DMOA dos fêmures e tíbias, e na força máxima admitida das tíbias. Os animais suspensos obtiveram uma perda significativa na qualidade óssea em todos os parâmetros analisados, com exceção da área. Baseado nos achados deste estudo, conclui-se que a falta de uso de um segmento ósseo, em *Rattus norvegicus albinus* em idade avançada, tanto obesos quanto não obesos, leva a um rápido enfraquecimento de todos os parâmetros ósseos. Exercícios produzem moderado efeito positivo nos animais não obesos e baixo efeito positivo nos animais obesos.

Palavras-chave: tecido ósseo, obesidade, ratos idosos, exercício, suspensão pela cauda, osteopenia.

MEDEIROS, R.A., Influence of obesity on bone tissue of aged *Rattus norvegicus albinus*, submitted to tail suspension and resistance exercise. 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

Abstract

In this study was evaluated the effects that obesity induced by sucrose intake provides in bone tissue of aged male Wistar rats in two opposite situations: in extreme inactivity, and performing strength exercises. Physical inactivity was induced by tail suspension, simulating situations of little or no load on the hindlimbs and the exercises were performed on adapted ladder. 54 male rats with 16 months old were studied. Upon completion 13 months old, 27 rats were randomly selected to receive sucrose-rich diet for 3 months. Analyzes were made: with densitometer to measure bone mineral content, bone mineral density and area in the femurs and tibias; Mechanical tests of compression of the femoral head, tibial compression and compression of the cortical bone and Immunohistochemical analysis with markings for OCN and TRAP. The results showed obese animals that performed exercises had significant improvement ($p < 0,05$) in BMC of femurs, while non-obese animals that performed exercises showed improvement in BMC of femurs and tibias, ABMD of femurs and tibias, and the maximum allowed force of tibias. The suspended animals had a significant bone quality loss ($p < 0,05$) in all parameters analyzed, except for the area. Based on our findings, we can conclude that lack of use of a bone segment in *Rattus norvegicus albinus* in old age, both obese and non-obese, leads to a rapid weakening of all bone parameters. Exercises provides moderate positive effect in non-obese animals and low positive effect in obese animals.

Keywords: bone tissue, obesity, aged rats, exercise, tail suspension, osteopenia.

Lista de figuras

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Figura 1</i> - Tira de Reston sendo colocada na cauda do animal para suspensão | 19 |
| <i>Figura 2</i> - Tira de Reston sendo colocada na cauda do animal para suspensão | 19 |
| <i>Figura 3</i> - Alça da espuma sendo presa na gaiola de suspensão | 19 |
| <i>Figura 4</i> - Alça da espuma sendo presa na gaiola de suspensão | 19 |
| <i>Figura 5</i> - Modelo de escada utilizada no treinamento de força | 21 |
| <i>Figura 6</i> - Média de ingestão de sacarose dos animais SaSu, SaEx e Sa | 24 |
| <i>Figura 7</i> - Média de ingestão de ração dos animais SaSu, SaEx e Sa | 24 |
| <i>Figura 8</i> - Média das massas dos animais suplementados com sacarose | 25 |
| <i>Figura 9</i> - Média das massas dos animais SaSu, SaEx, Su e Ex antes da suspensão e exercícios | 26 |
| <i>Figura 10</i> - Média das massas dos animais antes e após período experimental | 27 |
| <i>Figura 11</i> - Média das massas dos animais pós período experimental | 27 |
| <i>Figura 12</i> - Média das massas dos animais pós período experimental | 27 |
| <i>Figura 13</i> - Média do ganho de massa durante o período de suplementação | 28 |
| <i>Figura 14</i> - Média do CMO dos fêmures em comparação com grupo C | 30 |
| <i>Figura 15</i> - Média do CMO das tíbias em comparação com grupo C | 30 |
| <i>Figura 16</i> - Média do CMO dos fêmures em comparação com grupos C e Sa | 31 |
| <i>Figura 17</i> - Média do CMO das tíbias em comparação com grupos C e Sa | 31 |
| <i>Figura 18</i> - Média da DMOA dos fêmures em comparação com grupo C | 33 |
| <i>Figura 19</i> - Média da DMOA das tíbias em comparação com grupo C | 33 |
| <i>Figura 20</i> - Média da DMOA dos fêmures em comparação com grupos C e Sa | 34 |
| <i>Figura 21</i> - Média da DMOA das tíbias em comparação com grupos C e Sa | 34 |
| <i>Figura 22</i> - Média da Fmax da cabeça dos fêmures em comparação com grupo C | 35 |
| <i>Figura 23</i> - Média da Fmax da cabeça dos fêmures em comparação com grupos C e Sa | 35 |
| <i>Figura 24</i> - Média da rigidez da cabeça dos fêmures em comparação com grupo C | 37 |
| <i>Figura 25</i> - Média da rigidez da cabeça dos fêmures em comparação com grupos C e Sa | 37 |
| <i>Figura 26</i> - Média da tenacidade da cabeça dos fêmures em comparação com grupo C | 38 |
| <i>Figura 27</i> - Média da tenacidade da cabeça dos fêmures em comparação com grupos C e Sa | 39 |
| <i>Figura 28</i> - Média da Fmax das tíbias em comparação com grupo C | 40 |
| <i>Figura 29</i> - Média da Fmax das tíbias em comparação com grupos C e Sa | 40 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Figura 30</i> - Média da rigidez das tíbias em comparação com grupo C | 41 |
| <i>Figura 31</i> - Média da rigidez das tíbias em comparação com grupos C e Sa | 42 |
| <i>Figura 32</i> - Média da tenacidade das tíbias em comparação com grupo C | 42 |
| <i>Figura 33</i> - Média da tenacidade das tíbias em comparação com grupos C e Sa | 43 |
| <i>Figura 34</i> - Média da Fmax do osso cortical em comparação com grupo C | 44 |
| <i>Figura 35</i> - Média da Fmax do osso cortical em comparação com grupos C e Sa | 44 |
| <i>Figura 36</i> - Média da rigidez do osso cortical em comparação com grupo C | 45 |
| <i>Figura 37</i> - Média da rigidez do osso cortical em comparação com grupos C e Sa | 46 |
| <i>Figura 38</i> - Média da tenacidade do osso cortical em comparação com grupo C | 47 |
| <i>Figura 39</i> - Média da tenacidade do osso cortical em comparação com grupos C e Sa | 47 |
| <i>Figura 40</i> - Imunomarcção de OCN e TRAP | 49 |

Lista de tabelas

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Tabela 1</i> - Média do consumo de água, sacarose e ração por rato | 24 |
| <i>Tabela 2</i> - Média das variáveis analisadas pelo densitômetro DXA e pelos ensaios mecânicos | 29 |

Lista de abreviaturas

- CMO: Conteúdo mineral ósseo
- DMOA: Densidade mineral óssea areal
- DXA: densitômetro de dupla emissão de raios-X
- EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético
- Fmax: força máxima
- IMC: índice de massa corpórea
- OCN: osteocalcina
- OPG: osteoprotegenina
- RANK: receptor ativador do fator nuclear-kB
- RANKL: ligante do receptor ativador do fator nuclear-kB
- TRAP: fosfatase ácida resistente ao tartarato

Sumário

| | | |
|---------|--------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Introdução | 13 |
| 1.1 | Idade e envelhecimento | 13 |
| 1.2 | Obesidade | 14 |
| 1.3 | Sedentarismo | 15 |
| 1.4 | Exercícios | 15 |
| 1.5 | Metabolismo ósseo | 16 |
| 2 | Material e métodos | 18 |
| 2.1 | Animais | 18 |
| 2.2 | Técnica de suspensão | 19 |
| 2.3 | Programa orientado de treinamento de força | 20 |
| 2.4 | Consumo de água, sacarose e ração | 21 |
| 2.5 | Massa corpórea | 21 |
| 2.6 | Conteúdo mineral ósseo, área e densidade mineral óssea areal | 22 |
| 2.7 | Ensaio mecânicos | 22 |
| 2.8 | Imunoistoquímica: imunomarcagem de OCN e TRAP | 22 |
| 2.9 | Análise estatística | 23 |
| 3 | Resultados | 23 |
| 3.1 | Consumo de água, sacarose e ração | 23 |
| 3.2 | Massa corpórea | 25 |
| 3.3 | Análises com o densitômetro e ensaios mecânicos | 29 |
| 3.4 | Análises DXA | 30 |
| 3.4.1 | Conteúdo mineral ósseo | 30 |
| 3.4.2 | Áreas | 33 |
| 3.4.3 | Densidade mineral óssea areal | 33 |
| 3.5 | Ensaio mecânicos | 36 |
| 3.5.1 | Compressão da cabeça do fêmur | 36 |
| 3.5.1.1 | Força máxima da cabeça do fêmur | 36 |
| 3.5.1.2 | Rigidez da cabeça do fêmur | 37 |
| 3.5.1.2 | Tenacidade da cabeça do fêmur | 39 |
| 3.5.2 | Compressão da tíbia – flexão em 3 pontos | 40 |
| 3.5.2.1 | Força máxima das tíbias | 40 |

| | | |
|---------|----------------------------------------------|----|
| 3.5.2.2 | Rigidez das tíbias | 42 |
| 3.5.2.3 | Tenacidade das tíbias | 43 |
| 3.5.3 | Compressão do osso cortical | 44 |
| 3.5.3.1 | Força máxima do osso cortical | 44 |
| 3.5.3.2 | Rigidez do osso cortical | 46 |
| 3.5.3.3 | Tenacidade do osso cortical | 47 |
| 3.6 | Imunoistoquímica: imunomarcção de OCN e TRAP | 49 |
| 4 | Discussão | 50 |
| 5 | Conclusão | 55 |
| 6 | Referências | 56 |

1. INTRODUÇÃO

Considerando o crescente aumento da obesidade da população em geral, bem como o grande número de pessoas sedentárias e aumento da expectativa de vida da população, o **objetivo** deste trabalho foi avaliar os efeitos que a obesidade, induzida pelo consumo de sacarose, proporciona no tecido ósseo de ratos Wistar machos idosos, em duas situações opostas: em sedentarismo extremo e com realização de exercícios de força. O sedentarismo foi induzido pela suspensão pela cauda, simulando situações de pouca ou nenhuma carga nos membros pélvicos e os exercícios foram realizados em escada.

Partindo da hipótese de que a qualidade óssea é proporcional ao uso de um determinado segmento ósseo, pode-se dizer que o sedentarismo, cada vez mais crescente na civilização atual, é um dos fatores mais importantes para a perda da saúde óssea. Com o avanço tecnológico, o estilo de vida da sociedade atual foi, ao longo da história, gradativamente se alterando. O avanço da ciência trouxe grandes conquistas e confortos para o ser humano. Porém, alguns efeitos colaterais vieram inadvertidamente junto com estes avanços. O sedentarismo e o aumento significativo na ingestão de gordura e açúcares, e diminuição do consumo de fibras e carboidratos, são um dos principais problemas acarretados, trazendo consequências, como a perda de massa óssea e obesidade (FLEGAL et al., 2010; HEDLEY et al., 2004).

O esqueleto humano tem, entre outras, uma importante função de sustentação e movimentação do corpo humano, fornecendo pontos de fixação aos músculos esqueléticos. O osso é “o mecanismo mais engenhosamente programado pela natureza, já que, sem significar um peso excessivo, protege e suporta os órgãos e dá ao corpo flexibilidade nos deslocamentos” (DOUGLAS, 2006).

1.1 Idade e envelhecimento

A proporção de pessoas idosas na população mundial vem crescendo constantemente. Segundo o IBGE, a expectativa de vida no Brasil elevou 25 anos,

desde os anos 60. Naquela época, o número de idosos no país era de 3 milhões, em 1975 subiu para 7 milhões e, em 2008, 21 milhões.

Uma das doenças que mais acometem pessoas idosas é a osteoporose, que se caracteriza por ser uma síndrome sistêmica, proporcionando redução da massa óssea e prejuízo micro-arquitetural do esqueleto, predispondo à fragilidade mecânica e risco de fraturas. Este acometimento é decorrente de alterações do processo de remodelação óssea. Esta remodelação é dependente de vários fatores, tais como idade, uso de medicamentos, alimentação, entre outros. Atinge todos os gêneros e faixas etárias, porém privilegia idosos e mulheres após a menopausa (PINHEIRO et al., 2009).

1.2 Obesidade

A avaliação antropométrica e da composição corporal são aspectos que definem obesidade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), obesidade é o acúmulo anormal ou excessivo de gordura, e é, geralmente, estimada pelo índice de massa corporal (IMC), calculado dividindo-se o “peso” (em quilogramas) pela altura (em metros) ao quadrado. Valores de IMC maiores que 25 Kg/m² indicam sobrepeso, e acima de 30 indicam obesidade. O IMC tem uso amplamente disseminado na população, e é considerado uma das melhores alternativas clínicas para mensurar a obesidade.

A literatura médica tem atribuído à obesidade o caráter de fator prévio de desenvolvimento de inúmeras doenças crônicas (SEIDELL, 1998; CHAI, 2010), além de associá-la às alterações no índice de massa óssea, porém, dados sobre a qualidade óssea no sexo masculino são inconsistentes (CARVALHO, 2009).

Bioensaios têm sido empregados para elucidar os diversos fatores envolvidos com o complexo da obesidade e suas consequências (HANSEN, BALL, MORRIS, 2001; HOLEMANS et al., 2004; DAVIDSON et al., 2010; LIESCU, CHADE, 2010), bem como verificar a influência da atividade física (NAGAIHA, HAZARD, ABRAHAN, 2010) no aumento de massa corporal e gordura visceral em ratos (DANTAS, 2010). O exercício físico é estudado por ter uma possível influência no tecido ósseo. Há estudos que relatam que o exercício atua no osso por efeito direto via força mecânica (OCARINO, SERAKIDES, 2006).

A sacarose, o açúcar comum comercial, é um dissacarídeo que, quando consumido excessivamente, modifica a biodisponibilidade energética orgânica, ocasionando acréscimo da massa corporal por aumentar a deposição de gordura (CHAMPE, HARVEY, FERRIER, 2007). O nível de consumo de sacarose na dieta atual é muito alto e constante, e é um dos principais responsáveis pela obesidade na maior parte da população ocidental.

1.3 Sedentarismo

A falta de uso de um determinado segmento ósseo, seja por sedentarismo ou por redução natural de atividades físicas decorrentes do avanço da idade, pode ocasionar sua regulação negativa, ou seja, sua função fisiológica de síntese será menos pronunciada do que a de degradação, já que este osso não está tendo função, e isso pode levar à perda da massa óssea (BILEZIKIAN, RAISZ, MARTIN, 2008).

Um estudo publicado por AGUIRRE et al. (2006) mostrou que apoptose de osteócitos em ratos foi induzida por ausência de carga após o terceiro dia de suspensão. A conclusão dos autores foi de que as forças mecânicas diminuídas eliminam os sinais que mantêm a sustentabilidade dos osteócitos, levando a uma fraqueza óssea. VISIGALLI et al (2010) concluíram que a suspensão pela cauda induziu a modulação coordenada da expressão de genes em diferentes tipos de células mesenquimais da tíbia. A suspensão também induziu padrões específicos de expressão em genes relacionados à homeostasia e modulação do mRNA e proteínas para a deposição, maturação e remodelação de matriz extracelular, dos quais podem ser fatores chave para a manutenção óssea.

1.4 Exercícios

Quando determinado segmento ósseo é submetido a um trabalho de carga, ele pode sofrer adaptações fisiológicas, pela regulação positiva de síntese/degradação óssea, com o intuito de fortalecer este osso para melhor suportar esta carga no futuro (BILEZIKIAN, RAISZ, MARTIN, 2008).

Já está bem sedimentada na literatura que pessoas que preservam aptidão corporal apropriada conseguem desfrutar de uma vida mais longa e de muito mais qualidade. Com o avançar da idade, a mortalidade é, em média, três vezes menor nas pessoas mais aptas do que nas sedentárias (GUYTON & HALL, 2006).

Existem indícios, apesar de ainda não serem muito encontrados na literatura, de que o exercício físico minimiza a osteopenia decorrente do avançar da idade e do declínio hormonal, contudo, não são todos os tipos de exercício que promovem efeito benéfico sobre o esqueleto de mulheres pós-menopausa. Há estudos que demonstram que exercícios com carga de peso moderada como caminhadas e cooper, promovem aumento do conteúdo mineral nos ossos dessas mulheres. Ao contrário, foi observado em mulheres na pós-menopausa, submetidas a exercícios físicos de baixa carga de peso como natação, que são satisfatórios no condicionamento cardiovascular, mas não promovem alteração no conteúdo mineral do esqueleto (SINAKI, 1999).

A imobilização de um membro leva, em curto espaço de tempo, à perda de massa óssea, devido ao aumento intenso da reabsorção óssea, proporcionando osteopenia regional (AIRES, 2008). A interpretação para tais fatos seria a de que o esqueleto se adapta às suas necessidades, em termos de resistência para as cargas que carrega constantemente. O organismo tem a tendência de procurar manter uma menor massa óssea, apenas a necessária para suportar o corpo e suas atividades habituais (AIRES, 2008). Não se conhece até o momento todos os mecanismos controladores que regulam a quantidade de tecido a ser reabsorvido.

O declínio da massa óssea é bem relacionado com a idade avançada, podendo atingir taxas próximas de 1% ao ano, após os 50 anos de idade (WARMING, HASSAGER, CHRISTIANSEN, 2002), e aproximadamente um terço de todas as fraturas relacionadas à osteoporose acontecem em indivíduos de idade avançada (RYAN, PETKOV, ADLER, 2011). Isso enfatiza a necessidade de se buscar novas formas de prevenção de perda de massa óssea, e exercícios pode ser uma delas.

1.5 Metabolismo ósseo

Foram descritas três substâncias cruciais envolvidas no mecanismo de controle da diferenciação e ativação dos osteoclastos: RANK, seu ligante (RANKL) e a

osteoprotegenina (OPG). Os osteoblastos sintetizam RANKL, que é o ligante do receptor ativador do fator nuclear κ B (RANK) existentes nas membranas das células hematopoiéticas. Sua ligação leva à fusão destas células progenitoras e, conseqüentemente, a formação de osteoclastos. Estes osteoblastos, por outro lado, produzem e secretam também a OPG, que funciona como uma armadilha que captura o RANKL, impedindo sua ligação com o RANK nas células precursoras e, conseqüentemente, a sua diferenciação para osteoclastos. Este processo impede que RANKL em excesso ativem demasiadamente estas células hematopoiéticas (Aires, 2008).

Na formação óssea, já foram identificados mediadores da diferenciação dos osteoblastos. Um dos mais importantes consiste na via de sinalização do Wnt existente na membrana dos seus precursores. Os osteoblastos se originam de células mesenquimais osteoprogenitoras, e dependem de certos fatores de crescimento, tais como FGF (Fatores de crescimento dos fibroblastos), BMP (“Bone Morphogenetic Proteins”) e, como citado anteriormente, proteínas Wnt. Estas necessitam dos fatores de transcrição Runx2 e Osterix (AIRES, 2008).

Existem marcadores bioquímicos de remodelação óssea que quantificam a atividade de formação ou de reabsorção de células ósseas. Tais marcadores são enzimas sintetizadas por osteoblastos, por osteoclastos, ou mesmo por compostos orgânicos liberados durante a síntese e reabsorção da matriz óssea (SEIBEL, 2000). Um dos marcadores da formação óssea é a Osteocalcina, que é a proteína não colágena mais abundante no osso. É sintetizada pelos osteoblastos diferenciados e relacionada à mineralização da matriz osteóide (SARAIVA, CASTRO, 2002). Um marcador de reabsorção óssea é a fosfatase ácida tartarato-resistente (TRAP), que consiste em uma enzima lisossômica presente no osso, baço, plaquetas, eritrócitos e próstata, que reflete o número de osteoclastos em atividade (SARAIVA, CASTRO, 2002).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

O experimento está de acordo com os princípios éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado (n. do processo FOA-00122-2013) pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA). Foram estudados 54 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista - UNESP / Campus de Araçatuba – SP com um mês de idade, e mantidos em biotério até completarem 16 meses e 21 dias, caracterizando o final do experimento.

Os animais foram mantidos em gabinete com ambiente controlado ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade de 65%, ciclo claro/escuro (12/12 horas diárias) e filtragem de ar, em gaiolas comuns, sendo 12 gaiolas com número de quatro ratos em cada, e 2 gaiolas com 3 ratos em cada. Os animais foram alimentados com ração (Presence®, Paulínia, SP, Brasil) (Kcal – 366 kcal/100g, Magnésio – 0,006 mg, Ferro – 180 mg, Cobre – 30 mg, Zinco – 110 mg, Manganês – 110 mg, Iodo – 1 mg, Selênio – 0,2 mg, Cobalto – 2 mg, Vitamina A – 25.577 UI, Vitamina D3 – 4.000 UI, Vitamina E – 82 mg, Vitamina K – 6,40 mg, Ácido Fólico – 13 mg, Biotina – 0.16 mg, Colina – 2.800 mg, Niacina – 220 mg, Pantotenato de cálcio – 90 mg, Tiamina – 11 mg, Riboflavina – 12 mg, Piridoxina – vit. B6 HCl – 11 mg, Antioxidante – 200 mg, Ácido propiônico 1.486 mg, Carboidratos – 55%, Umidade máxima – 13%, Proteína bruta (min.) – 23%, Extrato etéreo (min.) – 4%, Matéria fibrosa (max.) – 7%, Matéria mineral (max.) – 10%, Cálcio (min.) – 1,2%, Cálcio (máx.) – 1,30%, Fósforo (min.) – 0,85%) e água a vontade.

Ao completarem 13 meses de idade, 27 ratos foram aleatoriamente selecionados para receberem dieta rica em sacarose. Tais animais tiveram livre acesso a ração, água e sacarose 30% m/v. A solução de sacarose foi preparada com a adição de 150g de açúcar no Becker vazio, e completando com água destilada até atingir 500ml (645 Kcal), homogeneizando-a com agitador magnético. Em cada gaiola permaneciam disponíveis duas mamadeiras: uma com água e uma com a solução de sacarose, permitindo assim a livre escolha dos animais. A cada 24 horas, a sobra das quantidades de ambas as mamadeiras eram mensuradas, descartadas, e as mamadeiras eram completadas novamente com água e com nova solução de sacarose. Este procedimento se repetiu diariamente até os animais completarem 16 meses de idade, quando então foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: 9 constituíram o grupo

sacarose (Sa), 9 o grupo Sacarose Suspenso (SaSu) e 9 o grupo Sacarose Exercício (SaEx).

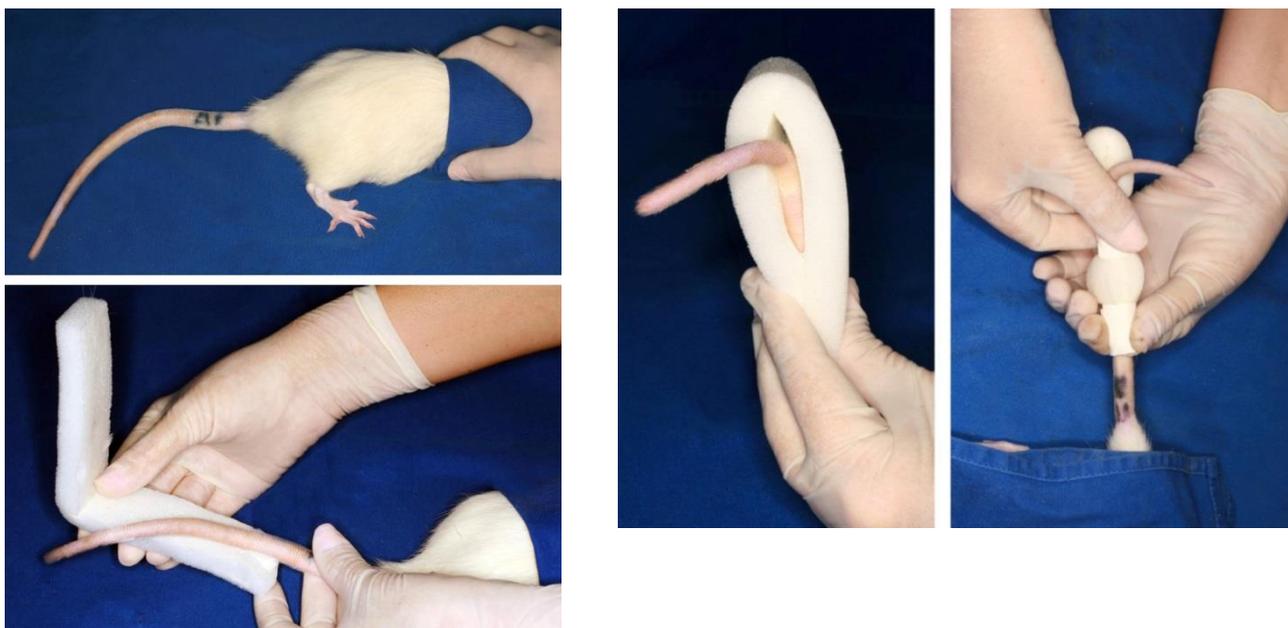
Os 27 animais restantes que não receberam a dieta rica em sacarose foram aleatoriamente distribuídos ao término destes 16 meses, formando mais 3 grupos: 9 animais constituíram o grupo controle (C), 9 o grupo Suspenso (Su), e 9 o grupo Exercício (Ex).

Após a distribuição dos grupos, os animais dos grupos SaSu e Su foram suspensos pela cauda, e permaneceram suspensos por 21 dias. Durante o mesmo período, os animais dos grupos SaEx e Ex realizaram exercício de força em escada. Os animais dos grupos C e Sa permaneceram em suas gaiolas, em suas atividades normais, durante estes 21 dias.

Terminado todo o período experimental, os animais foram anestesiados com Ketamina (30 mg/kg) e Xilazina (3 mg/kg), via intramuscular, em seguida, foi realizada a eutanásia por decapitação, para a retirada da glândula hipófise, da tireoide e do fígado para futuras análises, então os membros pélvicos foram dissecados e as tíbias e fêmures desarticuladas, removidas e limpas dos tecidos moles circundantes para análise.

2.2 Técnica de Suspensão

A suspensão do animal pela cauda foi realizada por meio de uma técnica desenvolvida por SILVA (2002). Com um pedaço de Reston (espuma adesiva), esta tira é colocada de um lado a outro na cauda e fixada com esparadrapo (Figura 1 e 2). O animal não precisa ser anestesiado. Após tal procedimento a alça de espuma foi presa a uma presilha e dependurado em uma barra cilíndrica rosqueada com altura ajustável no compartimento superior da gaiola (Figura 3 e 4). Deste modo, permite ao animal apoio suficiente dos membros anteriores para locomover-se e alimentar-se. Na barra de sustentação foram colocados dois bloqueios metálicos nas extremidades, ajustados de modo a não permitir que o animal tenha contato com as paredes da gaiola. A água é fornecida através de bebedouro colocado em altura adequada na parede da gaiola e ração comum foi colocada no assoalho. A vantagem dessa técnica é que, além do animal não precisar ser anestesiado, é realizada com agilidade, ao contrário das outras técnicas onde os animais necessitam de anestesia e analgésicos, além de causar estresse.



(Figura 1 e 2: A tira Reston é colocada de um lado a outro na cauda e fixada com esparadrapo) SILVA, Adriana; 2002.



(Figura 3 e 4: a alça de espuma é presa a uma presilha e dependurado em uma barra cilíndrica) SILVA, Adriana; 2002.

2.3 Programa orientado de treinamento de força

Os animais dos grupos Ex e SaEx realizaram treinamento de força em escada de madeira [113 cm de comprimento x 18 cm de largura; 2 cm de grade; 80° de inclinação;

com local para descanso no topo (diâmetro de 20 x 20 x 20 cm)] (HORNBERGER JUNIOR; FARRAR, 2004) três vezes por semana, durante 3 semanas (Figura 5).

Uma semana antes do início do experimento, os animais foram encorajados a subir a escada, objetivando o aprendizado e a adaptação ao exercício. No último dia de adaptação, o animal foi submetido a teste de força máxima (1-RM), com uso de um tubo de carga (esferas de aço) acoplado à cauda. Do primeiro ao quinto dia de exercícios, foi acoplado à cauda um tubo de carga relativo a 60% da força máxima, onde o animal realizou oito subidas, com intervalo de 1,5 minutos para descanso entre as subidas. Entre o quinto e o sexto dia de exercícios, o teste de força máxima foi repetido, para adequar a porcentagem de força máxima utilizada. Do sexto até o último dia de exercícios, foi utilizado um tubo de carga relativo a 70% da força máxima.

O número baixo de repetições, o intervalo de descanso de 1,5 minutos e os valores de porcentagem de carga, caracterizam exercícios com objetivo de ganho de força (BOMPA, 2001).



Figura 5: Escada utilizada no treinamento de força.

2.4 Consumo de água, sacarose e ração

O consumo da água e da solução de sacarose foi mensurado todos os dias por meio de proveta, pela diferença da solução colocada inicialmente (500 ml) com a sobra.

As sobras foram descartadas, fazendo-se reposição da quantidade da solução. O consumo de ração também foi mensurado diariamente pela diferença da ração inicialmente ofertada (300 g) com a ração que não foi consumida.

2.5 Massa Corpórea

A massa corpórea foi avaliada no primeiro dia da experimentação (quando os animais completarem 13 meses de idade), no primeiro dia de suspensão e treinamento (quando os animais completarem 16 meses de idade) e no dia da eutanásia, com balança digital de precisão (Balança Toledo®).

2.6 Conteúdo Mineral ósseo, Área e Densidade Mineral Óssea Areal

Os ossos (tíbias e fêmures) foram submetidos à análise da densidade mineral óssea areal–DMOA (em g/cm^2), área (cm^2) e conteúdo mineral ósseo – CMO (g) medidos com densitômetro DXA (modelo DPX-Alpha, Lunar®) com software especial para pequenos animais (pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FMVA/UNESP). Para tal, os ossos foram limpos e colocados em recipiente de acrílico com água deionizada e escaneados usando o densitômetro com software para pequenos animais acoplado a um computador, selecionando-se a região de interesse (todo o osso) com análise densitométrica.

2.7 Ensaios Mecânicos

Em máquina universal EMIC, modelo DL 3000 (pertencente ao Departamento de Materiais Dentários da FOA /UNESP-Araçatuba), os ossos foram submetidos à ensaios mecânicos de flexão em três pontos, de compressão da cabeça do fêmur e de compressão do osso cortical. No ensaio de flexão em três pontos, o osso é apoiado em dois suportes (dois pontos) e a força aplicada em um terceiro ponto, no meio geométrico entre os dois apoios (terço médio da tíbia). No ensaio de compressão da cabeça do fêmur, os ossos foram apoiados em pé em suporte apropriado, com a força sendo aplicada diretamente na cabeça do fêmur. No ensaio de compressão do osso

cortical, foram retiradas amostras de aproximadamente 4mm de comprimento na região diafisária do fêmur, e levados à máquina de ensaio, onde foram comprimidos.

Os ensaios foram destrutivos e foi registrada a força máxima admitida (F_{max}). A carga aplicada teve velocidade de 5 mm/min com célula de carga de 2000N. Também foi calculada a rigidez e a tenacidade, variáveis que expressam a resistência óssea. Os resultados foram registrados em sistema computacional pertencente ao próprio equipamento.

2.8 Imunoistoquímica: Imunomarcção de OCN e TRAP

Logo depois de retirados, os ossos esquerdos foram fixados em formalina neutra (10%), durante 48 horas, em temperatura ambiente. Em seguida, lavados em água corrente por 24 horas e descalcificados em solução de EDTA (10%). Após descalcificados, os ossos foram lavados em água corrente (24 horas), desidratados, diafanizados e incluídos em parafina pelo método de rotina. Nos blocos obtidos, foram efetuados cortes semi-seriados, com 06 micrômetros de espessura, os quais foram utilizados para imunoistoquímica.

Foi realizada marcação imunoistoquímica nos cortes histológicos das tíbias (epífise proximal) dos animais. Foram utilizados anticorpos primários (1:100) contra a osteocalcina (Goat anti-osteocalcin - SC18319) e TRAP (Goat anti-TRAP - SC 30832).

Os anticorpos secundários (1:200) foram anti-coelho biotilado (immunopure rabbit anti goat - Pier 31732).

O sinal da reação foi amplificado com o sistema avidina-biotina (Kit ABC-Vectastain Elite ABC – Peroxidase Standard, reagent A and B only – PK6100 – Vector Laboratories) e a reação revelada utilizando a diaminobenzidina (DAB) como cromógeno.

A especificidade das marcações foi confirmada pela exclusão do anticorpo primário em lâminas controle. Todas as incubações dos anticorpos foram realizadas em câmara úmida à temperatura de 25°C.

Os resultados foram expressos em escores com base na intensidade, classificados como grau 1 (leve), grau 2 (moderado) e grau 3 (severo). O resultado negativo foi interpretado como ausência de marcação e classificado como grau 0.

Toda a avaliação foi realizada por dois observadores realizando análise subjetiva. As imagens foram processadas no microscópio Axio Imager A.1 (Carl Zeiss Oberkochen, Alemanha) conectado a câmera AxioCam MRc (Carl Zeiss) e micrografias foram processadas no software Axiovision 4.7 (Carl Zeiss).

2.9 Análise estatística

Os resultados obtidos foram apresentados como média e desvio padrão. Foi realizada análise de variância – ANOVA e a comparação entre os grupos foi feita pelo teste Tukey, paramétrico, para determinar diferença estatística entre os grupos. O valor considerado estatisticamente significativo foi de $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1 Consumo de água, sacarose e ração

Os valores diários de consumo de água e sacarose pelos animais dos grupos SaSu, SaEx e Sa, entre o 1º e o 90º dia, estão representados na figura 6:

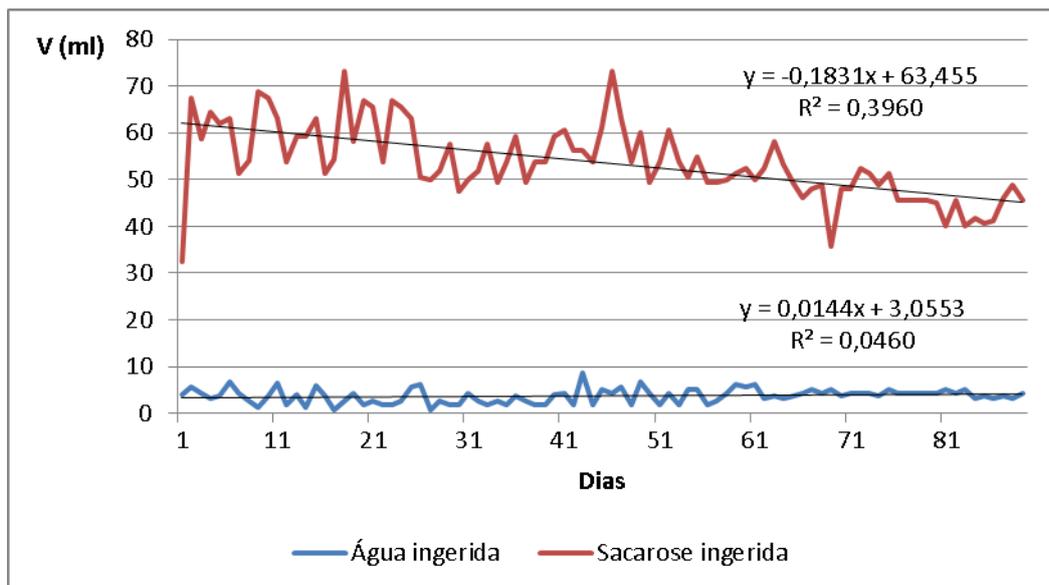


Figura 6. Quantidade média, por rato, de água e sacarose consumida pelos animais dos grupos SaSu, SaEx e Sa, com suas respectivas linhas de tendência. O eixo X representa os dias (1º ao 90º).

Os valores diários de consumo de ração pelos animais dos grupos SaSu, SaEx e Sa, entre o 1º e o 90º dia, estão representados na figura 7:

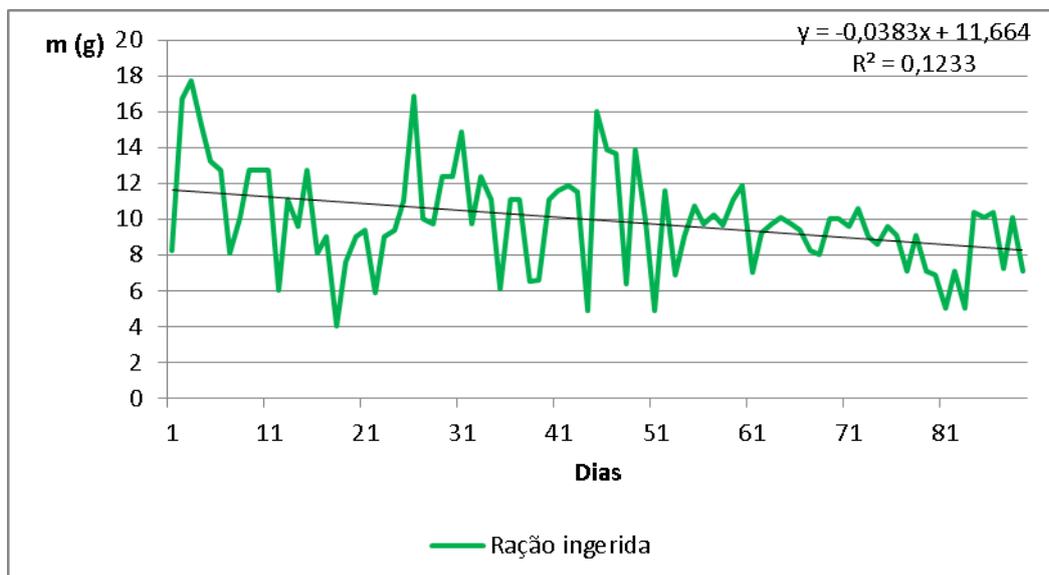


Figura 7. Quantidade média, por rato, de ração consumida pelos animais dos grupos SaSu, SaEx e Sa, e sua linha de tendência. O eixo X representa os dias (1º ao 90º).

A tabela 1 mostra o consumo médio diário de água, sacarose e ração destes animais:

Tabela 1. Média do consumo diário de água, sacarose e ração, por rato (grupos Sa, SaSu e SaEx)

| | |
|----------|---------------|
| Água | 3,7 ± 1,6 ml |
| Sacarose | 53,7 ± 8,0 ml |
| Ração | 9,9 ± 2,8 g |

3.2 Massa Corpórea

Foi realizada, nos animais designados à suplementação com sacarose, a mensuração de sua massa corpórea antes e após a suplementação com sacarose. A análise estatística desta diferença de massas demonstrou diferença significativa ($p < 0,0001$). Este valor de p mostra que a suplementação com sacarose teve grande impacto no aumento de massa corpórea destes animais. Estes valores estão representados pela figura 8:

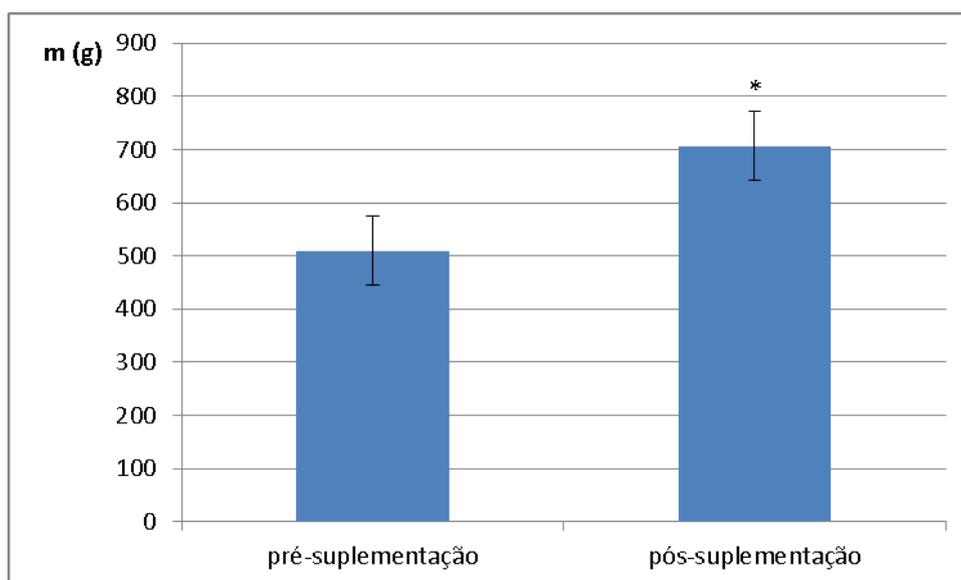


Figura 8. Média e desvio padrão da massa dos animais designados à suplementação com sacarose, antes e após a suplementação. * $p < 0,05$.

A seguir serão mostrados comparativos de massas dos animais designados aos grupos suspensos e exercícios, antes destes serem submetidos à suspensão/exercícios, para constar se há diferença das massas antes deles iniciarem o experimento.

A figura 9 mostra a massa corporal média dos animais dos grupos SaSu, SaEx, Su e Ex, antes de iniciarem a suspensão e os exercícios. A diferença de massa entre os grupos Su e Ex não foi considerada estatisticamente significativa ($p=0,23$), assim como a diferença entre os grupos SaSu e SaEx ($p=0,70$)

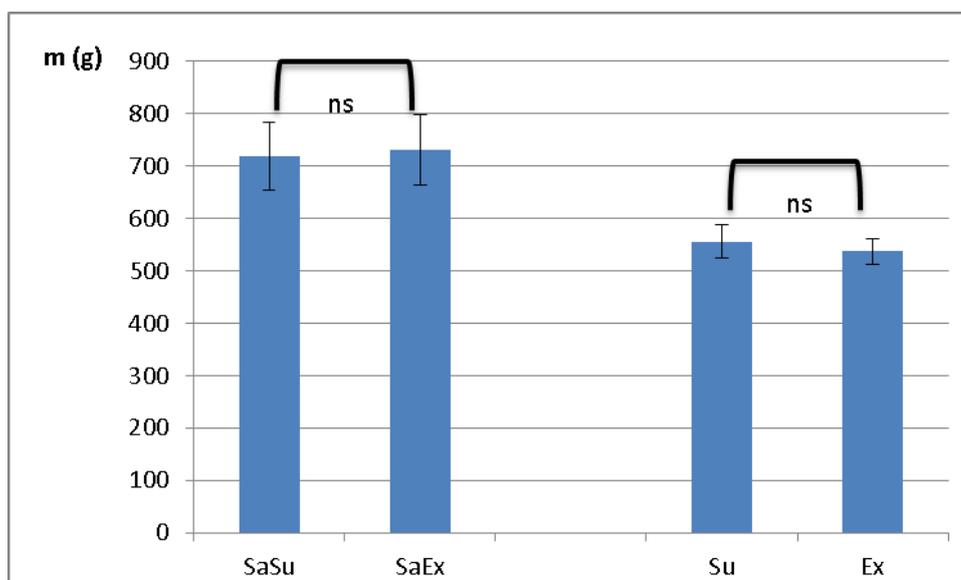


Figura 9. Média e desvio padrão da massa dos animais dos grupos Sasu, Saex, Su e Ex, respectivamente, antes de iniciarem a suspensão e os exercícios. ns = não significativo.

A seguir é ilustrada a influência que a suspensão e os exercícios tiveram na massa corporal destes animais. A figura 10 mostra a diferença de massa corporal antes e depois da suspensão e antes e depois dos exercícios para os grupos SaEx e Ex. Os animais do grupo Su não tiveram perda significativa de massa corporal durante o período de suspensão pela cauda ($p=0,057$), assim como os animais obesos do grupo SaSu ($p=0,074$).

Não houve perda de massa estatisticamente significativa nos animais do grupo Ex ($p=0,07$), porém ela existiu nos animais obesos do grupo SaEx ($p=0,027$).

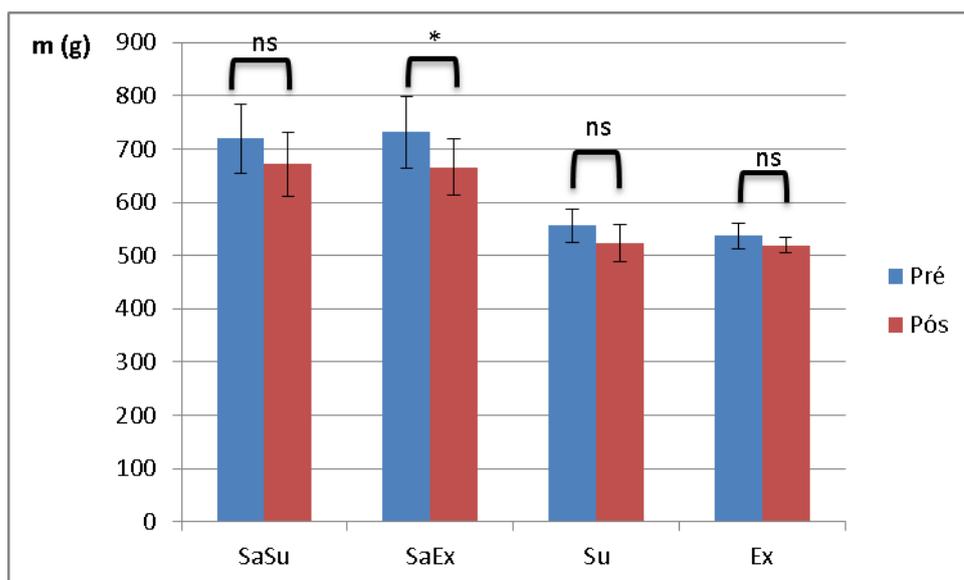


Figura 10. Média e desvio padrão da massa dos animais no momento pré e pós suspensão (para os grupos SaSu e Su) e pré e pós exercícios (para os grupos SaEx e Ex). * $p < 0,05$. ns = não significativo.

Em seguida, foi feita uma comparação de variação de massa entre os grupos sacarose exercícios e suspensos (SaEx e SaSu) com o grupo sacarose (Sa), após os 21 dias de suspensão/exercícios, como mostrado na figura 11. As diferenças de massa corpórea não foram significativas, tanto para o grupo SaSu ($p=0,10$) quanto para o SaEx ($p=0,07$).

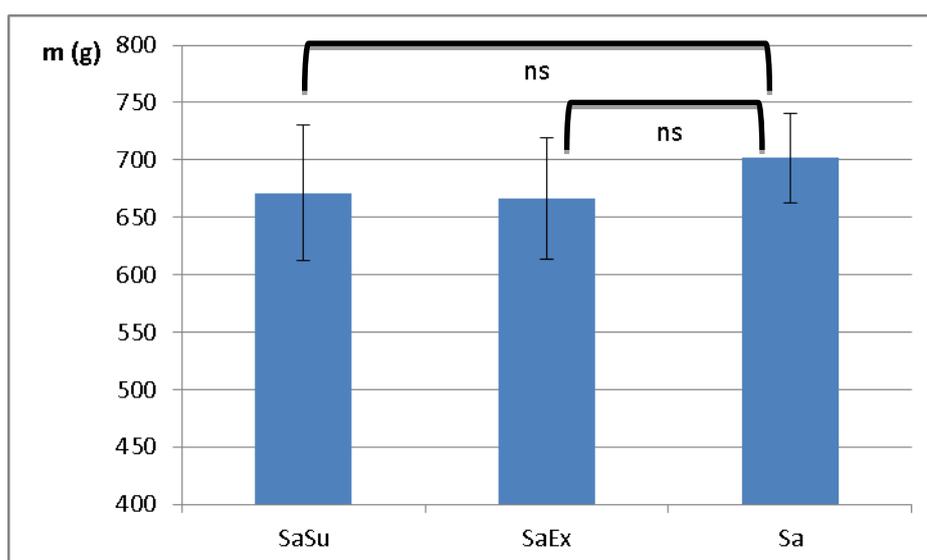


Figura 11. Média e desvio padrão da massa dos animais no momento pós suspensão/exercícios. ns = não significativo.

Após o período de suspensão/exercícios, outra comparação foi realizada, entre a massa média dos animais que foram suspensos, e os animais que realizaram exercício de força, como mostrado na figura 12. A análise estatística revelou que a diferença de massa entre os grupos Su e Ex não foi considerada estatisticamente significativa ($p=0,74$), assim como a diferença entre os grupos SaSu e SaEx ($p=0,85$).

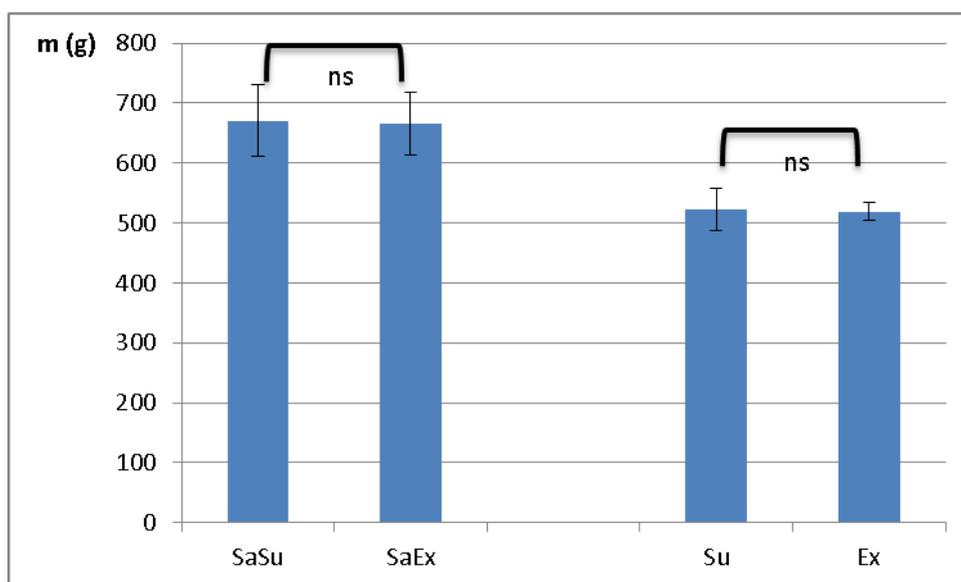


Figura 12. Média e desvio padrão da massa dos animais dos grupos Su e Ex, respectivamente, após a suspensão e os exercícios. O eixo y representa o valor da massa (g).

A figura 13 mostra o ganho de massa corporal médio de todos os animais designados a ingerir o suplemento com sacarose durante 3 meses, em linha azul (do 390º ao 480º dia), bem como de todos os outros animais não suplementados com sacarose, pelo mesmo período, em linha vermelha. Ao final desse período, é apresentada a massa corporal média de cada grupo, antes e após o período de 21 dias de suspensão (grupos SaSu e Su), exercícios (grupos SaEx e Ex) e da permanência normal em gaiolas (grupos Sa e C).

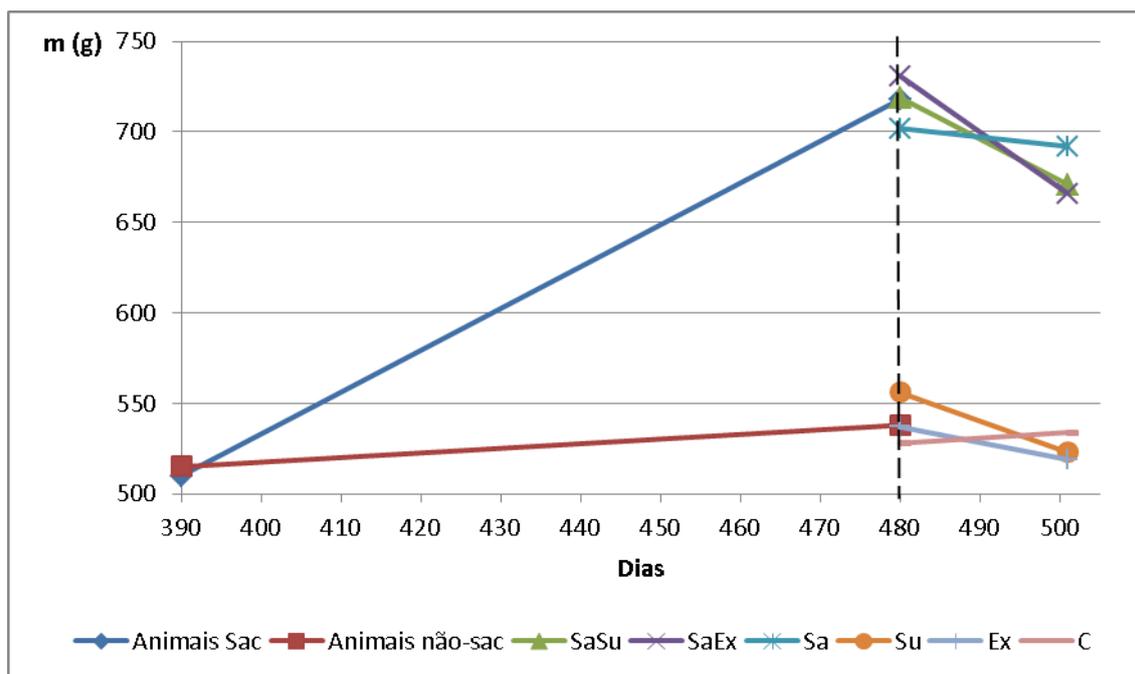


Figura 13. Média das massas. As linhas do 390º ao 480º dia indicam o ganho de massa corporal média dos animais designados aos grupos Sacarose, e aos não-sacarose. As linhas após o 480º dia da figura mostram a variação de massa durante o período experimental.

3.3 Análises com o densitômetro e ensaios mecânicos

A tabela 2 mostra os valores mensurados das variáveis analisadas neste estudo, onde serão mostradas com mais detalhes a seguir.

Tabela 2. Média e desvio padrão das variáveis analisadas pelo densitômetro DXA e pelos ensaios mecânicos

| | | C | Su | Ex | Sa | SaSu | SaEx |
|----------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| CMO | Fêmur | 0,499±0,03 | 0,399±0,06 | 0,606±0,09 | 0,556±0,07 | 0,420±0,04 | 0,598±0,02 |
| | Tíbia | 0,325±0,02 | 0,237±0,04 | 0,395±0,05 | 0,331±0,06 | 0,256±0,04 | 0,363±0,05 |
| Área | Fêmur | 2,023±0,06 | 2,012±0,08 | 2,021±0,16 | 2,012±0,06 | 2,020±0,12 | 2,015±0,15 |
| | Tíbia | 1,605±0,14 | 1,607±0,10 | 1,616±0,09 | 1,602±0,15 | 1,608±0,08 | 1,611±0,10 |
| DMOA | Fêmur | 0,264±0,02 | 0,228±0,02 | 0,295±0,02 | 0,265±0,02 | 0,215±0,02 | 0,284±0,03 |
| | Tíbia | 0,228±0,01 | 0,197±0,01 | 0,256±0,02 | 0,211±0,01 | 0,183±0,01 | 0,231±0,02 |
| Cabeça do fêmur | Fmáx | 149,62±30,90 | 120,43±20,18 | 173,20±30,71 | 146,07±18,69 | 114,71±11,44 | 151,78±12,91 |
| | Rigidez | 314,18±66,24 | 247,03±67,59 | 344,26±65,36 | 312,72±28,09 | 255,53±35,82 | 333,37±65,58 |
| | Tenacidade | 56,05±13,97 | 40,20±10,96 | 67,45±15,45 | 45,94±9,56 | 33,20±10,42 | 57,85±10,93 |
| Terço médio da tíbia | Fmáx | 88,54±12,40 | 70,59±11,44 | 112,82±24,34 | 82,15±16,07 | 58,29±15,19 | 97,41±20,19 |
| | Rigidez | 177,53±17,62 | 144,32±15,61 | 197,69±51,70 | 174,54±32,60 | 132,57±20,85 | 196,43±19,51 |
| | Tenacidade | 38,88±13,50 | 24,38±9,63 | 50,31±19,11 | 33,20±11,64 | 19,83±3,51 | 39,41±11,26 |
| Cortical do fêmur | Fmáx | 883,3±107,1 | 660,9±121 | 887±145,8 | 736,2±150,3 | 555,6±100,5 | 803,7±110,9 |
| | Rigidez | 2231±308 | 1952±227 | 2381±339 | 2034±239 | 1656±285 | 2087±146 |
| | Tenacidade | 378,5±78,3 | 287,7±51,97 | 383,9±122,7 | 333,6±84 | 275,8±83,6 | 356,6±43,78 |

3.4 Análises DXA

3.4.1 Conteúdo mineral ósseo (CMO)

Comparando os animais dos grupos Su e Ex, em relação ao grupo C, as figuras 14 e 15 mostram as análises de conteúdo mineral ósseo. O CMO dos fêmures dos animais do grupo suspenso diminuíram 20% ($p=0,0007$), e as tíbias diminuíram 27% ($p<0,0001$), em relação ao grupo C. Por outro lado, os fêmures do grupo exercício tiveram um aumento de 21% ($p=0,005$), e as tíbias também aumentaram em 21% ($p=0,007$) em relação ao grupo C.

Comparando agora os grupos sacarose, em relação ao C, as figuras 14 e 15 mostram que o CMO do grupo SaSu obteve uma perda de 32% ($p=0,009$) nas tíbias, e de 25% ($p=0,01$) no fêmures. Por outro lado, o grupo SaEx obteve um aumento de 11% ($p=0,07$) na tíbias, e de 15% nos fêmures ($p=0,01$).

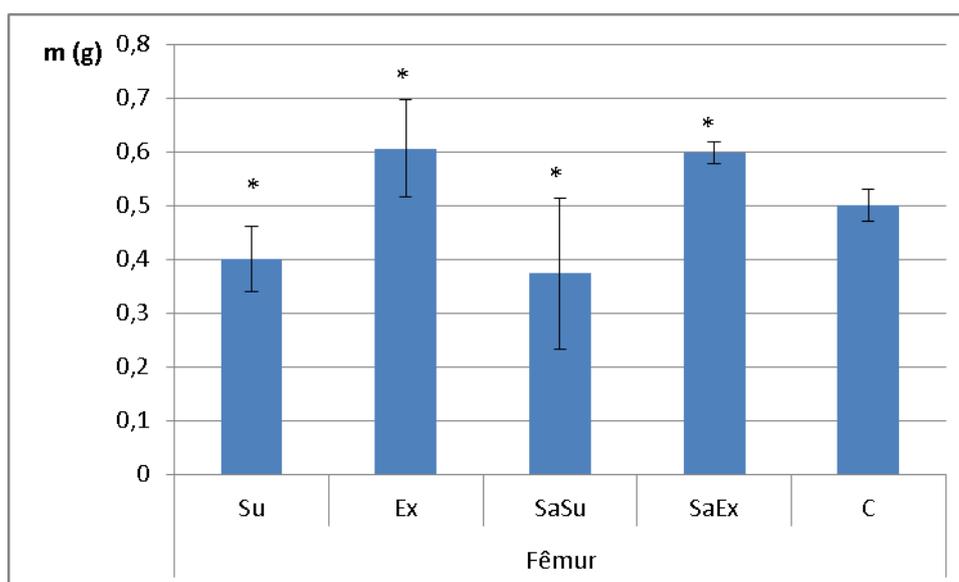


Figura 14. Média e desvio padrão do CMO dos fêmures dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx após a suspensão e os exercícios, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$.

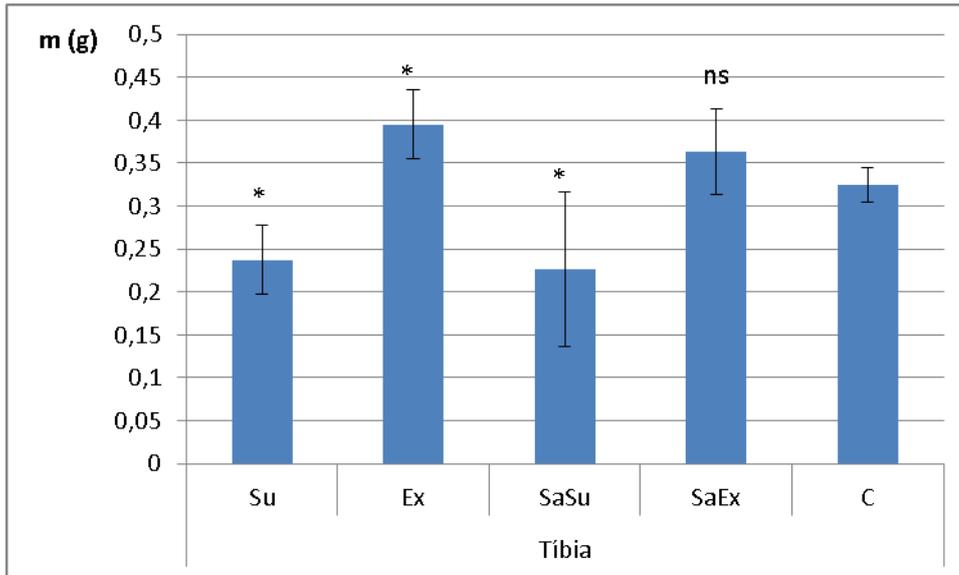


Figura 15. Média e desvio padrão do CMO das tíbias dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx após a suspensão e os exercícios, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Fazendo uma comparação dos animais obesos que fizeram exercícios e os que ficaram suspensos (SaSu e SaEx) com os animais obesos (Sa). Observa-se que o CMO dos fêmures do grupo SaEx aumentou em 9% ($p=0,11$) e as tíbias aumentaram em 10% ($p=0,15$) em relação ao grupo Sa. Por outro lado, os animais do grupo SaSu tiveram a CMO de seus fêmures diminuída em 32% ($p=0,004$) e de suas tíbias diminuída em 31% ($p=0,012$).

Os animais do grupo Sa tiveram um ganho de 12% ($p=0,04$) nos fêmures, e de 2% ($p=0,70$) nas tíbias.

A comparação dos efeitos na CMO da suspensão e do exercício entre os animais não obesos (Su e Ex em relação ao C) e os animais obesos (SaSu e SaEx em relação ao Sa) estão ilustrados nas figuras 16 (Fêmures) e 17 (Tíbias).

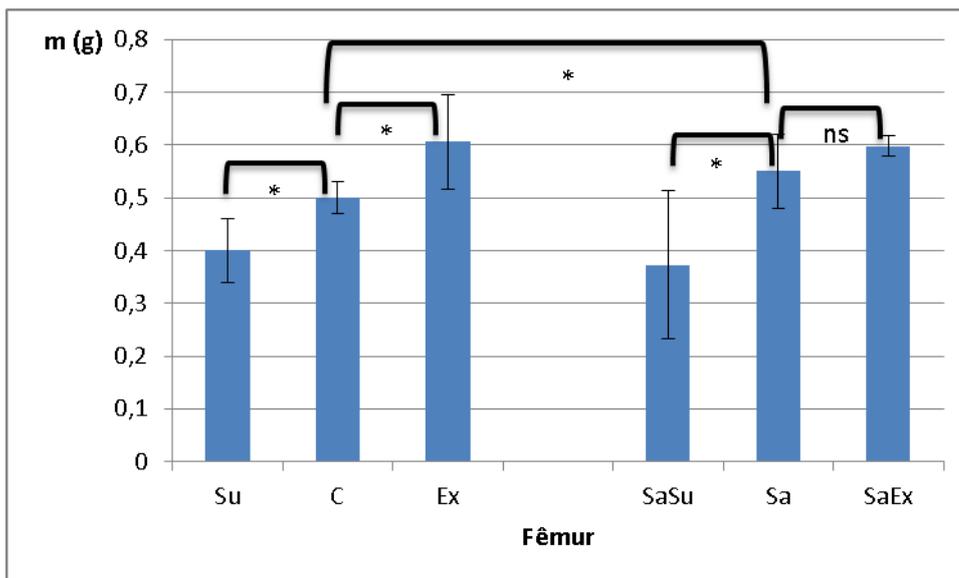


Figura 16. Média e desvio padrão do CMO dos fêmures dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

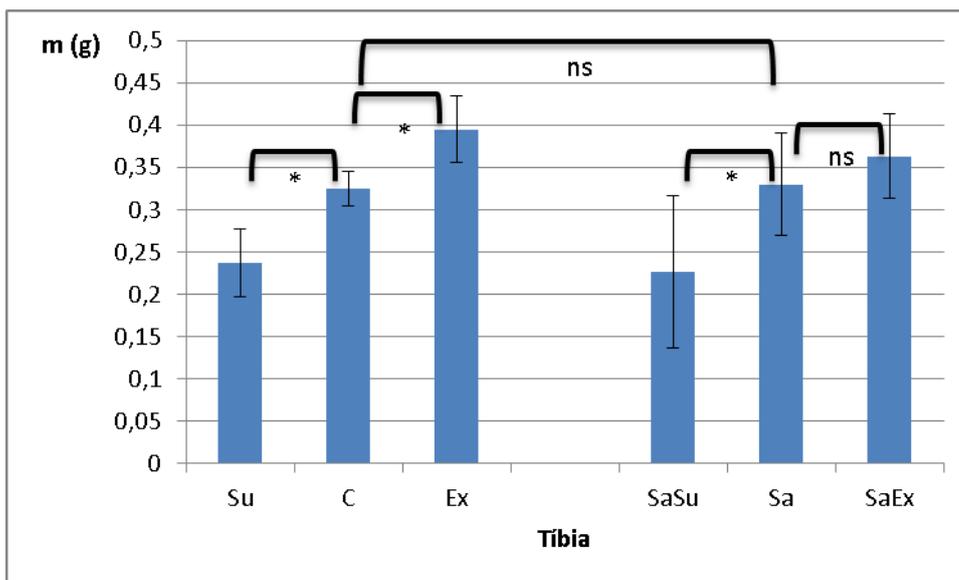


Figura 17. Média e desvio padrão do CMO das tíbias dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.4.2 ÁREAS

Os valores das áreas mensuradas dos ossos, tanto os fêmures quanto as tíbias, permaneceram praticamente as mesmas. Todos os valores mensurados não mostraram diferença significativa.

3.4.3 Densidade mineral óssea areal (DMOA)

Comparando os animais dos grupos Su e Ex, em relação ao grupo C, as figuras 18 e 19 mostram as análises de densidade mineral óssea areal. A DMOA dos fêmures dos animais do grupo suspenso diminuiu em 15% ($p=0,001$), e das tíbias diminuiu em 17% ($p=0,0001$) em relação ao grupo C. Por outro lado, o grupo Ex teve a DMOA dos fêmures aumentado em 11% ($p=0,012$) e das tíbias aumentado em 12% ($p=0,004$).

Comparando agora os grupos sacarose, em relação ao C, podemos verificar, como também indicado nas figuras 18 e 19, que a DMOA das tíbias do grupo SaSu obtiveram uma perda de 29% ($p=0,007$), e os fêmures, uma perda de 21% ($p=0,01$). Em contrapartida, as tíbias do grupo SaEx tiveram um ganho de 5% ($p=0,41$) e, os fêmures, um ganho de 3% ($p=0,50$) em relação ao grupo C. Ao contrário do que aconteceu com o grupo exercício (Ex), os animais do grupo sacarose exercícios (SaEx) não obtiveram diferença significativa.

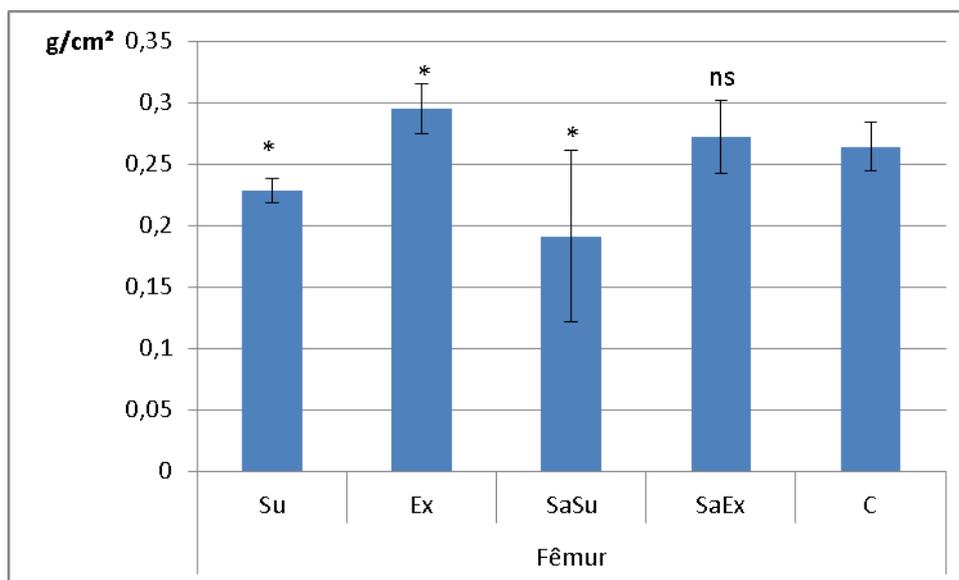


Figura 18. Média e desvio padrão da DMOA dos fêmures dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx após a suspensão e os exercícios, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$. ns=não significativo.

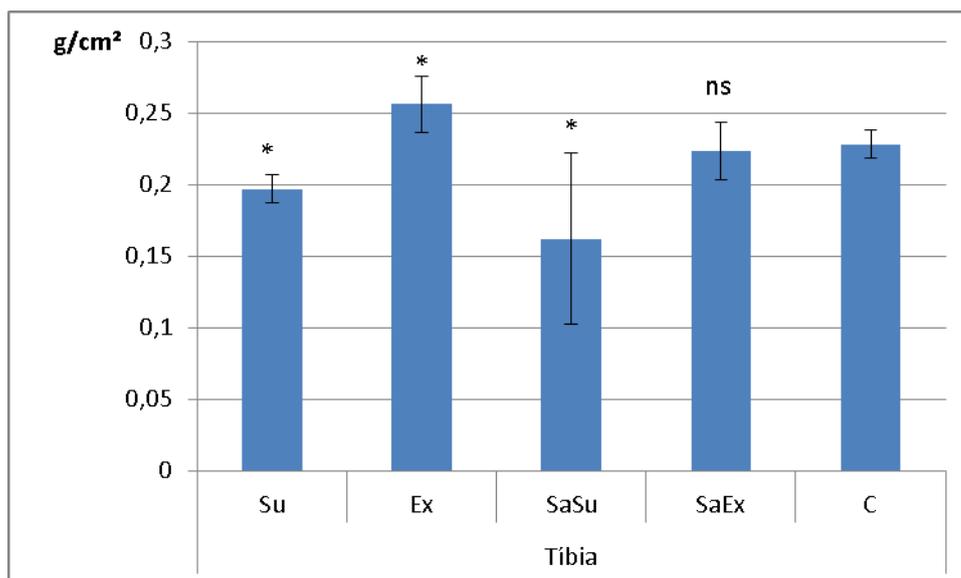


Figura 19. Média e desvio padrão da DMOA das tíbias dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx após a suspensão e os exercícios, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Fazendo agora a comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, verificamos que a DMOA dos fêmures dos animais do grupo SaSu diminuiu em 31% ($p=0,005$), e as tíbias diminuíram em 28% ($p=0,01$). Por outro lado, os animais do grupo SaEx tiveram a DMOA de seus fêmures aumentada em 7% ($p=0,13$) e as tíbias aumentadas em 9% ($p=0,06$).

Os fêmures dos animais do grupo Sa permaneceram praticamente com o mesmo valor de DMOA dos grupo C (diferença inferior a 1%), enquanto que as suas tíbias tiveram uma diminuição de 7% ($p=0,048$).

A comparação dos efeitos da suspensão e do exercício na DMOA entre os animais não obesos (Su e Ex em relação ao C) e os animais obesos (SaSu e SaEx em relação ao Sa) estão ilustrados nas figuras 20 (Fêmures) e 21 (Tíbias).

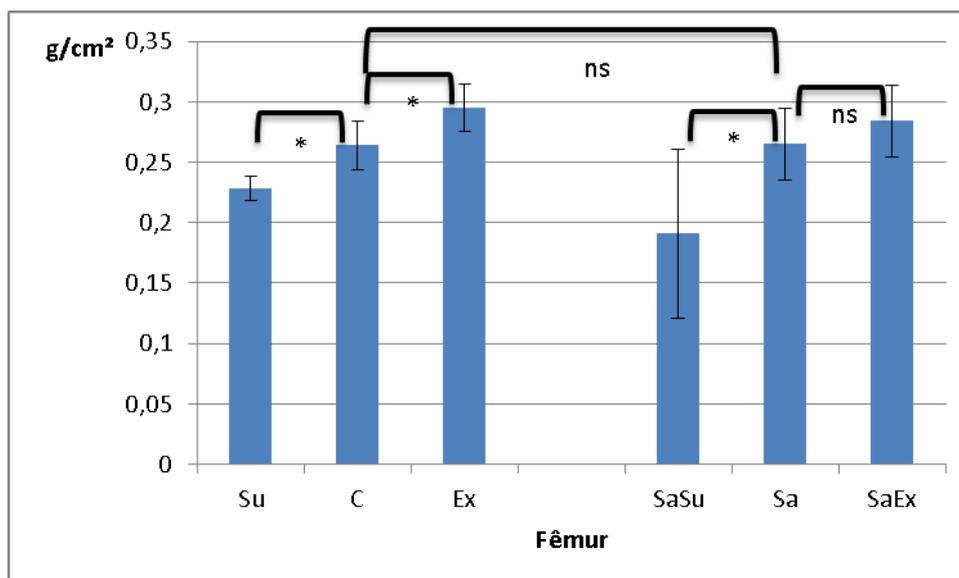


Figura 20. Média e desvio padrão do DMOA dos fêmures dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

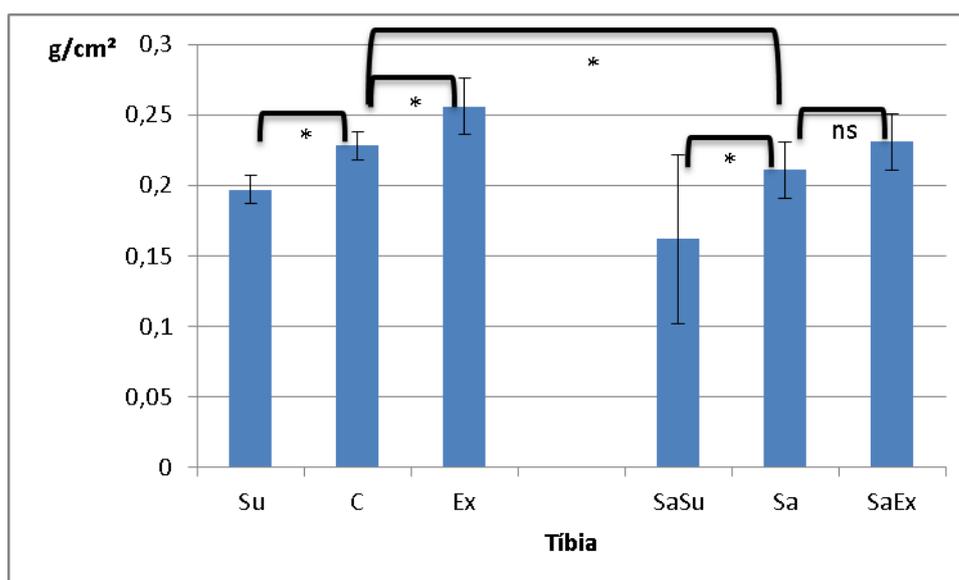


Figura 21. Média e desvio padrão do DMOA das tíbias dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5 ENSAIOS MECÂNICOS

3.5.1 Compressão da cabeça do fêmur

3.5.1.1 Força Máxima da cabeça do fêmur

A figura 22 mostra os resultados de força máxima admitida na cabeça do fêmur. O grupo Ex obteve um aumento de resistência à força aplicada de 13% ($p=0,09$) em relação ao grupo C. Por outro lado, o grupo Su obteve uma diminuição de resistência em 23% ($p=0,01$).

Entre os animais obesos, o grupo SaEx obteve um aumento de 8% ($p=0,48$), enquanto que o grupo SaSu obteve uma perda de 23% ($p=0,009$) em relação ao grupo C.

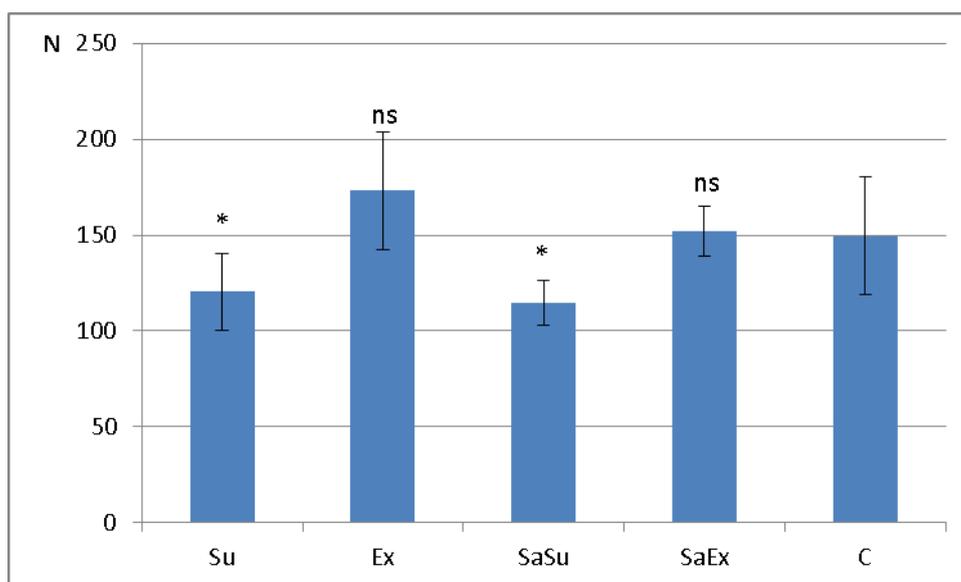


Figura 22. Média e desvio padrão da Fmax dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$. ns=não significativo.

Realizando uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 23. Verificamos que a Fmax admitida da cabeça dos fêmures dos animais do grupo SaSu diminuiu em 22% ($p=0,001$), Por outro lado, os animais do grupo SaEx tiveram a Fmax de seus fêmures aumentada em 4% ($p=0,36$) e as tíbias aumentadas em 9% ($p=0,06$).

A Fmax admitida dos animais do grupo Sa tiveram uma diminuição de 3% ($p=0,61$) em relação ao grupo C.

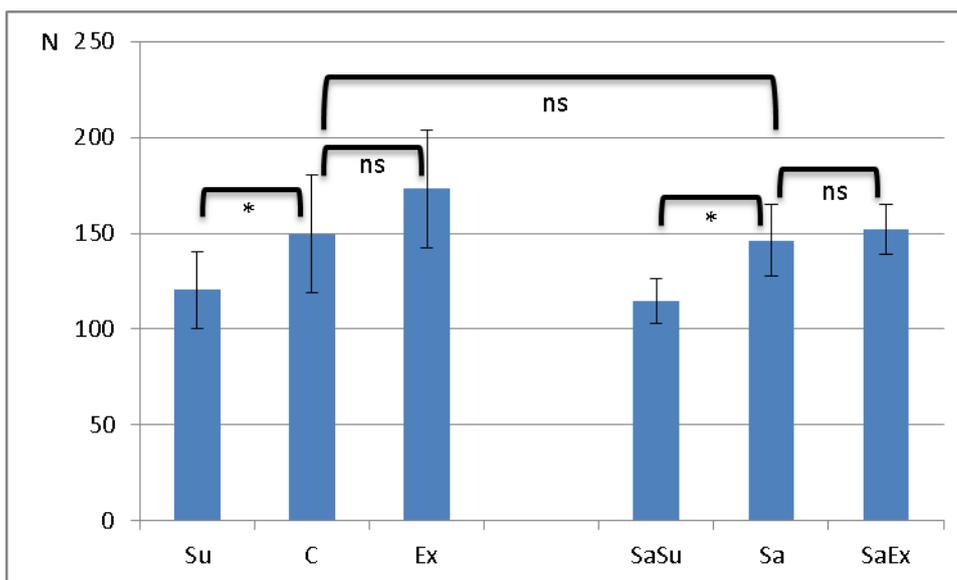


Figura 23. Média e desvio padrão da Fmax dos fêmures dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.1.2 Rigidez da cabeça do fêmur

A figura 24 mostra os resultados de rigidez da cabeça do fêmur. O grupo Ex obteve um aumento de 9% ($p=0,32$) em relação ao grupo C, enquanto que o grupo Su obteve uma diminuição de 22% ($p=0,03$).

Para os animais obesos, o grupo SaEx obteve um aumento de 6% ($p=0,44$), enquanto que o grupo SaSu obteve uma diminuição de 19% ($p=0,03$).

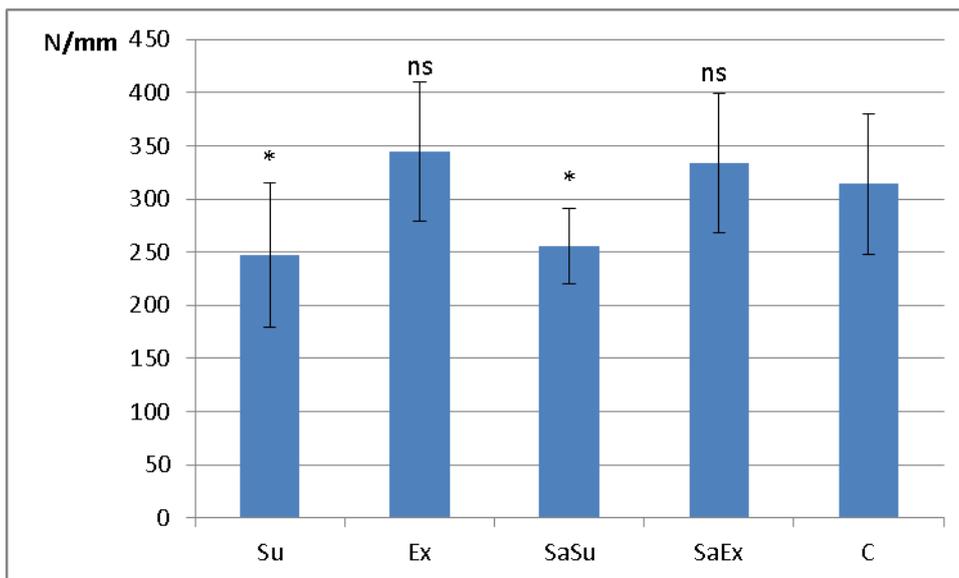


Figura 24. Média e desvio padrão da rigidez dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 25, verificamos que a rigidez dos fêmures dos animais do grupo SaSu diminuiu 19% ($p=0,002$), enquanto que nos animais do grupo SaEx aumentou em 6% ($p=0,31$).

A rigidez dos animais do grupo Sa permaneceu praticamente com o mesmo valor dos animais do grupo C (diferença inferior a 1%).

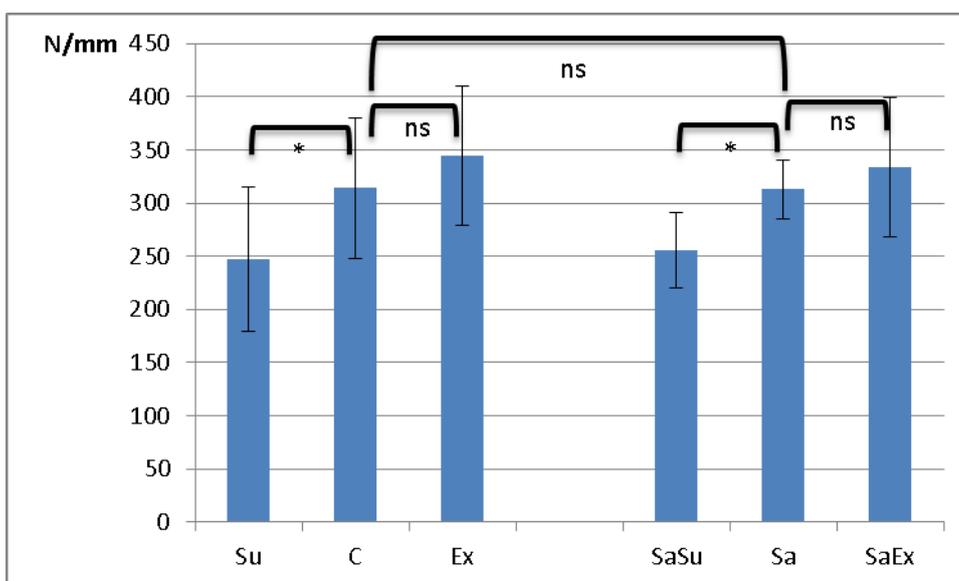


Figura 25. Média e desvio padrão da rigidez dos fêmures dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.1.3 Tenacidade da cabeça do fêmur

Na figura 26 estão ilustrados os resultados de tenacidade da cabeça do fêmur. O grupo Ex obteve um aumento de 18% na tenacidade ($p=0,07$) em relação ao grupo C, enquanto que o grupo Su teve sua tenacidade diminuída em 28% ($p=0,01$).

Os animais do grupo SaEx obtiveram um aumento na tenacidade em 2% ($p=0,76$), enquanto que o grupo SaSu obteve sua tenacidade diminuída em 38% ($p=0,0009$).

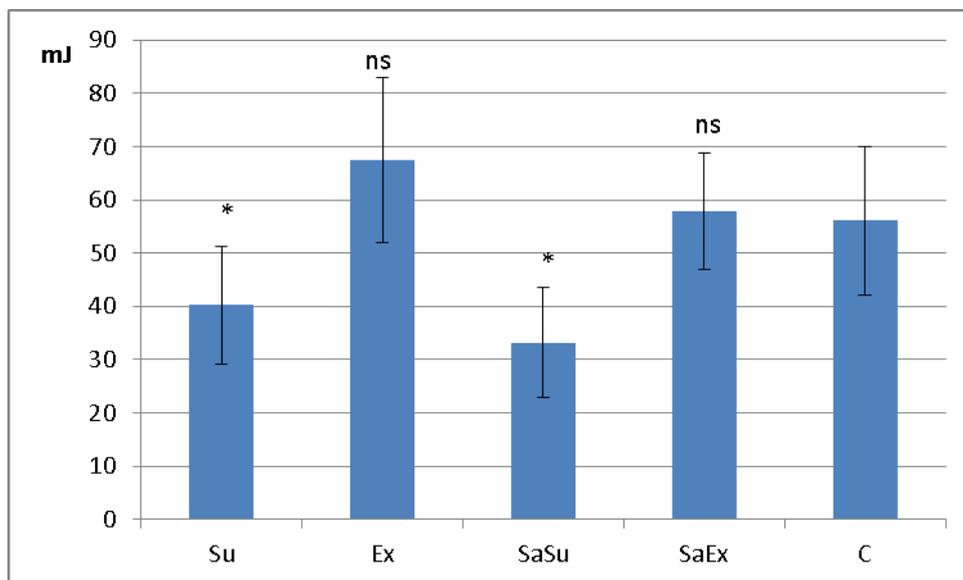


Figura 26. Média e desvio padrão da tenacidade dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 27, verificamos que a tenacidade dos fêmures dos animais do grupo SaSu diminuiu 28% ($p=0,01$), enquanto que nos animais do grupo SaEx aumentou em 21% ($p=0,02$).

A tenacidade dos animais do grupo Sa diminuiu em 19% ($p=0,09$) em relação ao grupo C.

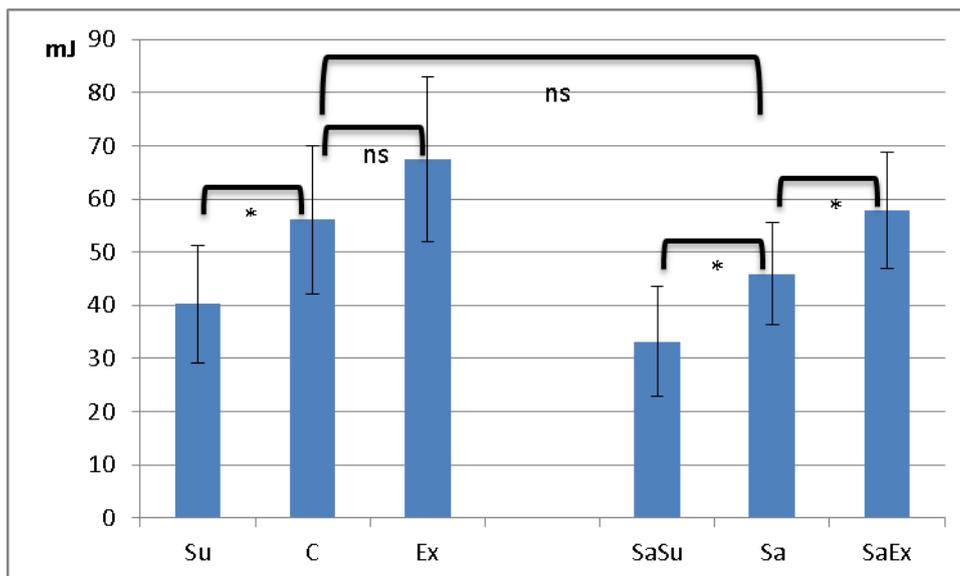


Figura 27. Média e desvio padrão da tenacidade dos fêmures dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.2 Compressão da tíbia – Flexão em 3 pontos

3.5.2.1. Força máxima das tíbias

Podemos observar na figura 28 a ilustração dos resultados de força máxima admitida no terço médio das tíbias. Os animais do grupo Ex obtiveram um aumento de resistência à força aplicada de 21% ($p=0,011$) em relação ao grupo C, enquanto que o grupo Su teve sua resistência à força aplicada diminuída em 20% ($p=0,005$).

Os animais do grupo SaEx obtiveram aumento da força máxima admitida em 10% ($p=0,14$) em relação ao grupo C, enquanto que os animais do grupo SaSu obtiveram diminuição de 34% ($p=0,0003$).

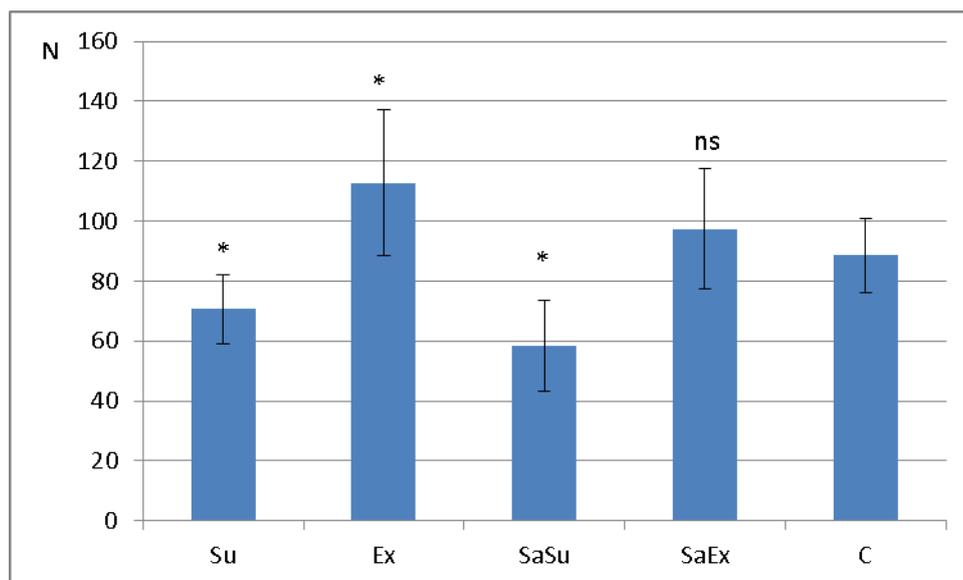


Figura 28. Média e desvio padrão da força máxima das tíbias dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 29, verificamos que a força máxima admitida nas tíbias dos animais do grupo SaSu diminuiu 29% ($p=0,006$), enquanto que nos animais do grupo SaEx aumentou em 17% ($p=0,07$).

O grupo Sa obteve uma diminuição de 7% ($p=0,37$) em relação ao grupo

C

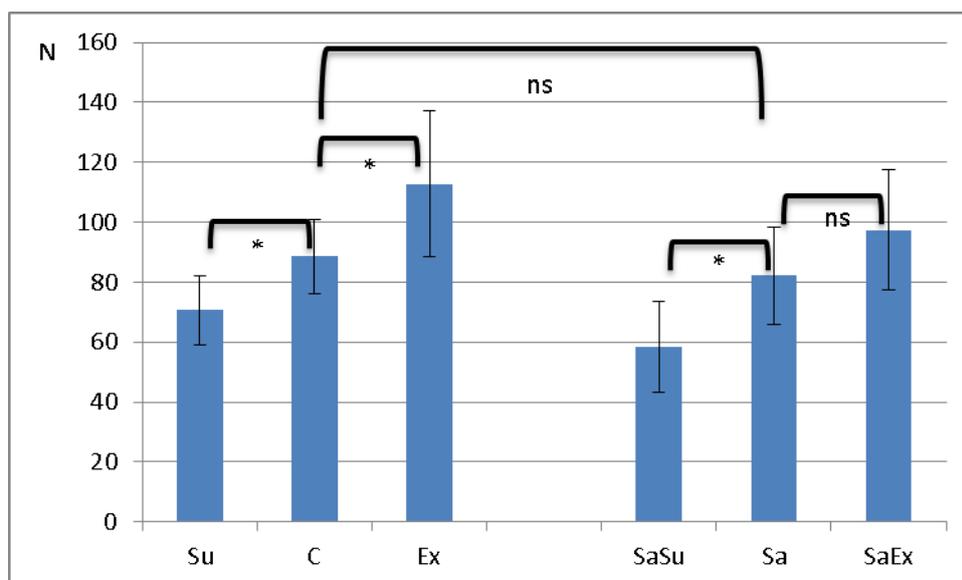


Figura 29. Média e desvio padrão da força máxima admitida nas tíbias dos animais após a suspensão e os exercícios * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.2.2 Rigidez das Tíbias

Os resultados de rigidez das tíbias estão ilustrados na figura 30. Os animais do grupo Ex obtiveram um aumento de 11% na rigidez ($p=0,12$), enquanto que o grupo Su obteve uma diminuição de 20% ($p=0,0006$), em relação ao grupo C.

Entre os animais obesos, o grupo SaEx teve a rigidez de suas tíbias aumentada em 10% ($p=0,09$), enquanto que o grupo SaSu teve uma diminuição de 24% ($p=0,001$), em relação ao grupo C.

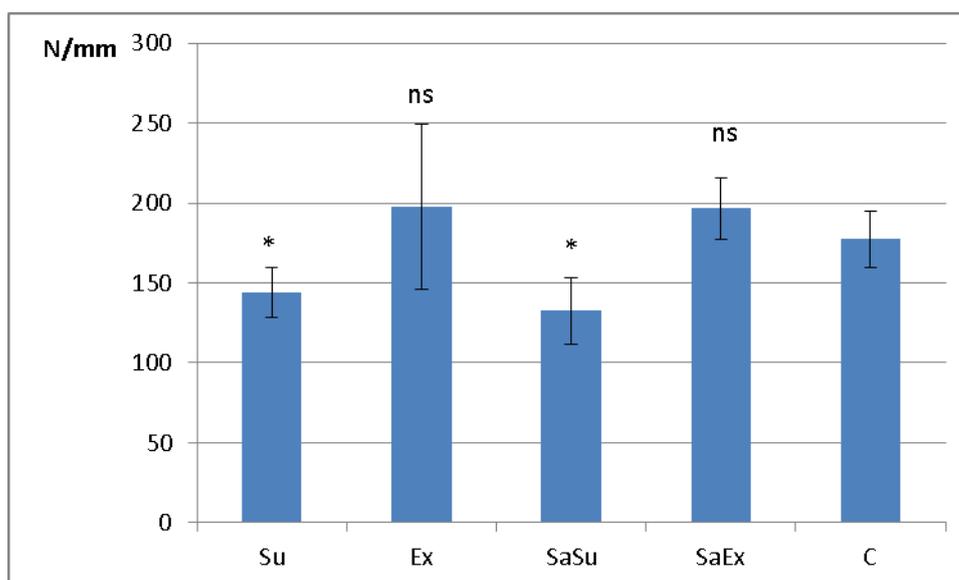


Figura 30. Média e desvio padrão da rigidez das tíbias dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$. ns=não significativo

Incluindo agora a comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 31, verificamos que a rigidez nas tíbias do grupo SaEx aumentou em 12% ($p=0,10$), enquanto que o grupo SaSu teve perda de 25% ($p=0,005$).

Os animais do grupo Sa tiveram uma perda de 2% ($p=0,81$) em relação ao grupo C

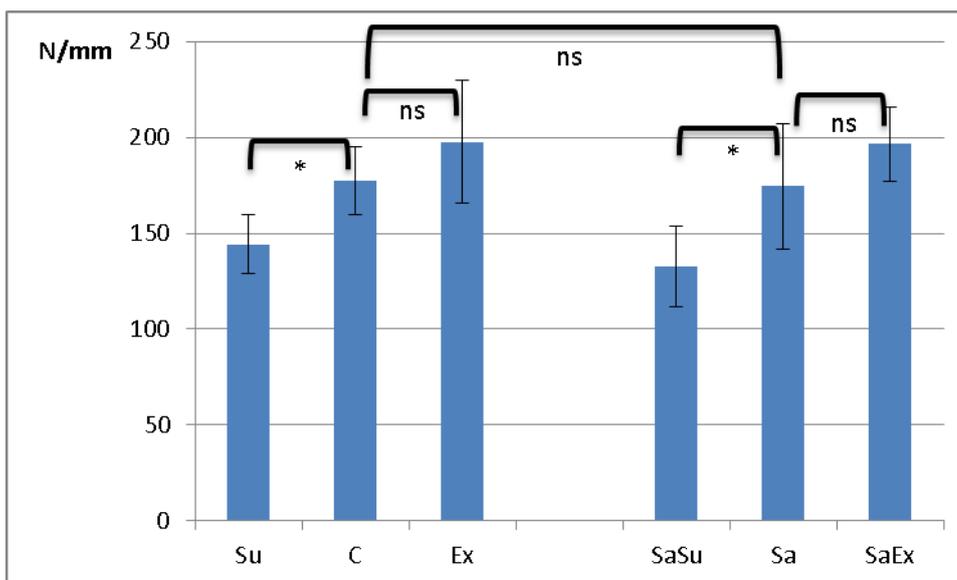


Figura 31. Média e desvio padrão da rigidez das tíbias dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.2.2 Tenacidade das Tíbias

Os resultados de tenacidade das tíbias estão ilustrados na figura 32. Os animais do grupo Ex tiveram um aumento de 22% ($p=0,07$), e o grupo Su obteve uma perda de 36% na tenacidade ($p=0,011$), em relação ao grupo C.

Para os animais obesos, o grupo SaEx obteve um aumento de 1% ($p=0,92$), e o grupo SaSu obteve uma perda de 45% ($p=0,001$) na tenacidade.

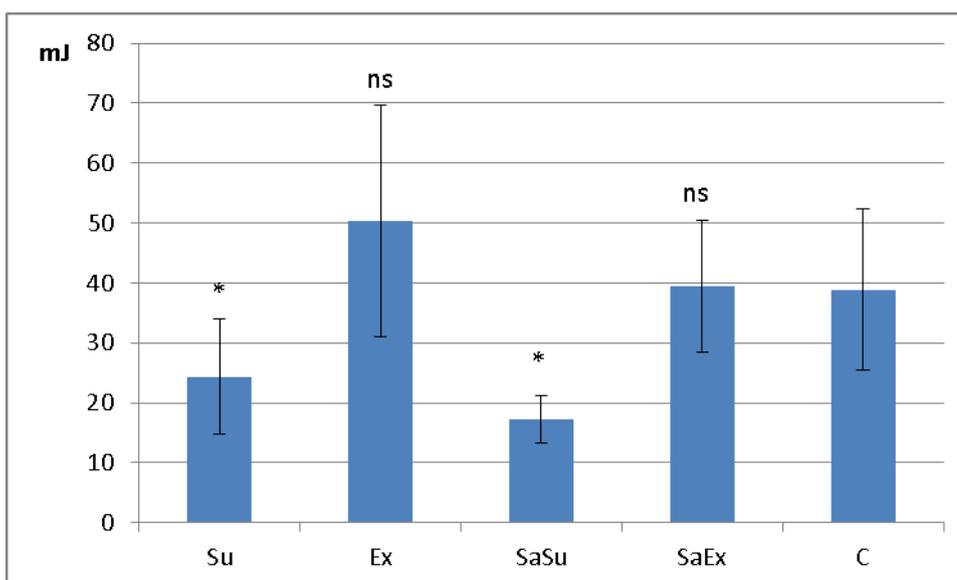


Figura 32. Média e desvio padrão da tenacidade das tíbias dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 33, verificamos que a tenacidade das tíbias do grupo SaEx aumentou em 17% ($p=0,16$), enquanto que o grupo SaSu teve perda de 38% ($p=0,007$).

O grupo Sa obteve uma perda de 12% ($p=0,35$) em relação ao grupo C.

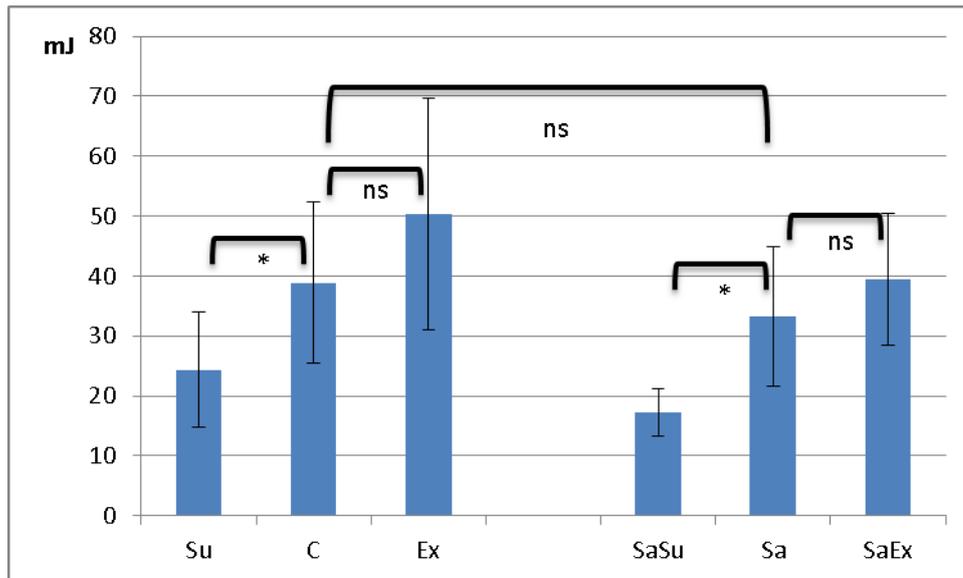


Figura 33. Média e desvio padrão da tenacidade das tíbias dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p<0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.3 Compressão do osso cortical

3.5.3.1 Força Máxima do osso cortical

Podemos observar na figura 34 a ilustração dos resultados de força máxima admitida no osso cortical dos fêmures. O grupo Ex permaneceu praticamente com o mesmo valor do grupo C (diferença inferior a 1%). Por outro lado, o grupo Su obteve uma diminuição de 25% ($p=0,006$).

Entre os animais obesos, o grupo SaEx obteve uma diminuição de 8% ($p=0,28$), enquanto que o grupo SaSu obteve uma perda de 34% ($p=0,001$) em relação ao grupo C.

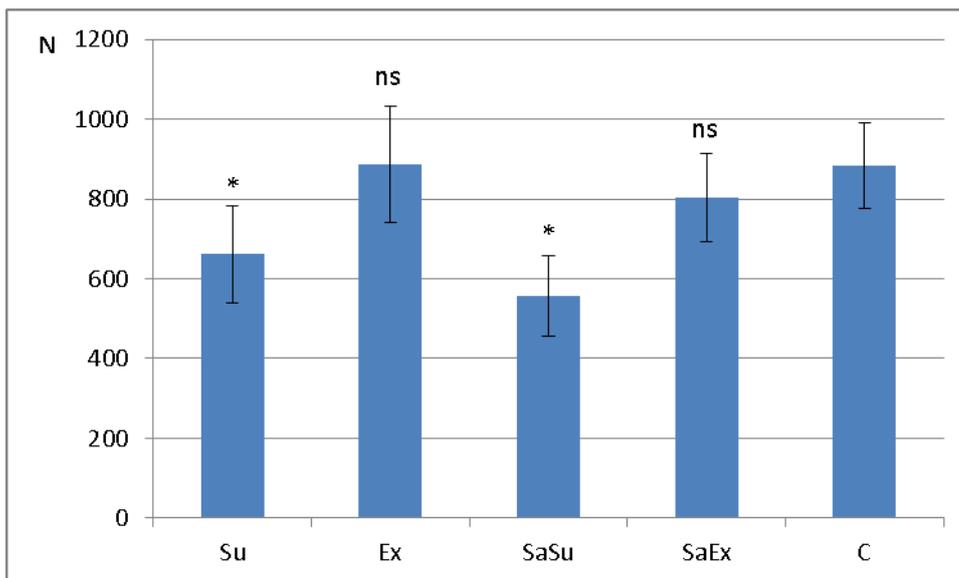


Figura 34. Média e desvio padrão da força máxima admitida do osso cortical dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 35, verificamos que a força máxima admitida na porção cortical do grupo SaEx aumentou em 9% ($p=0,34$), enquanto que o grupo SaSu teve perda de 25% ($p=0,002$).

O grupo Sa obteve uma perda de 18% ($p=0,08$) em relação ao grupo C.

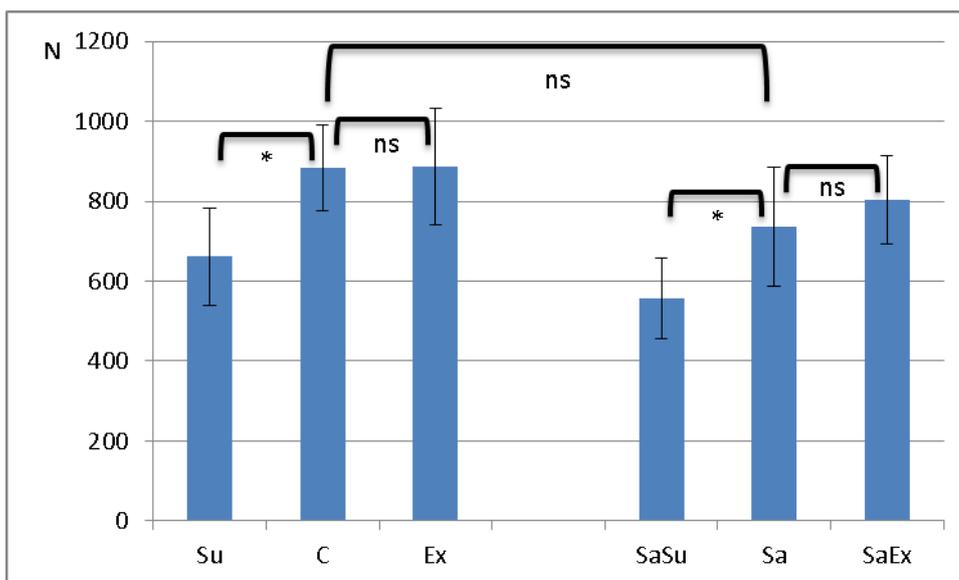


Figura 35. Média e desvio padrão da força máxima admitida do osso cortical dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.3.2 Rigidez do osso cortical

Os resultados de rigidez do osso cortical estão ilustrados na figura 36. Os animais do grupo Ex obtiveram um aumento de 6% na rigidez ($p=0,38$), enquanto que o grupo Su obteve uma diminuição de 13% ($p=0,065$), em relação ao grupo C.

Entre os animais obesos, o grupo SaEx obteve uma diminuição de 6% ($p=0,28$), enquanto que o grupo SaSu obteve uma perda de 25% ($p=0,005$) em relação ao grupo C.

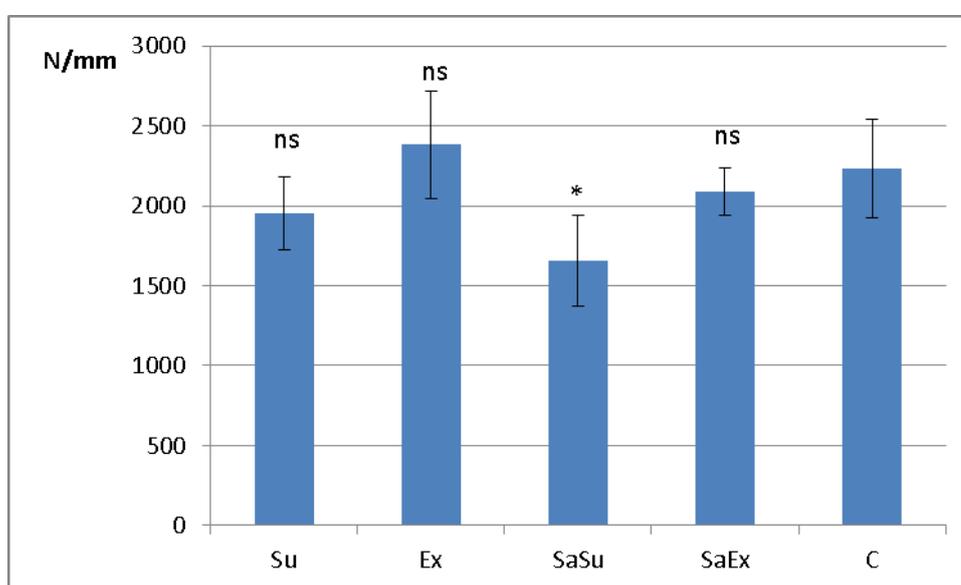


Figura 36. Média e desvio padrão da rigidez do osso cortical dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p<0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 37, verificamos que a rigidez do grupo SaEx aumentou em 2% ($p=0,61$), enquanto que o grupo SaSu teve perda de 18% ($p=0,019$).

O grupo Sa obteve uma perda de 7% ($p=0,18$) em relação ao grupo C.

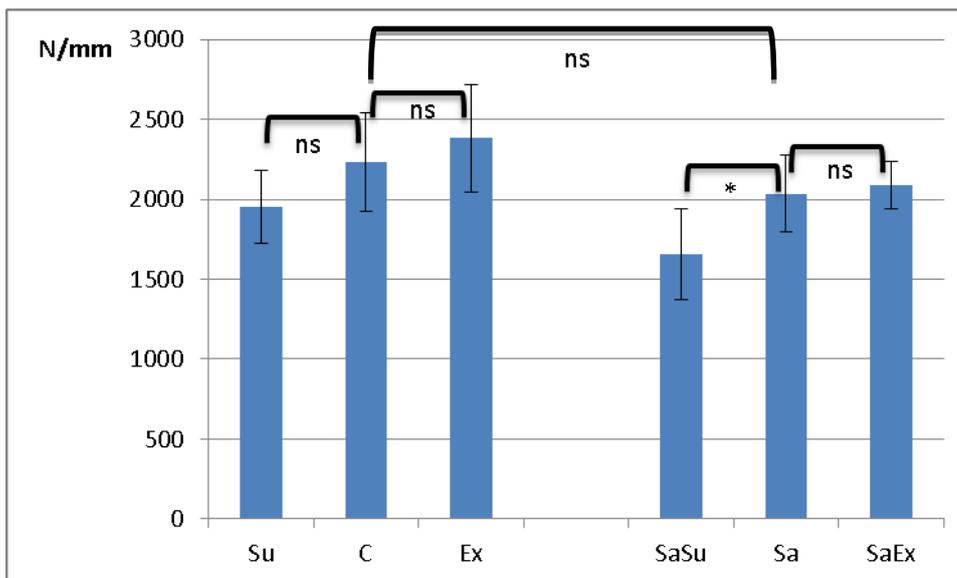


Figura 37. Média e desvio padrão da rigidez do osso cortical dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.5.3.3 Tenacidade do osso cortical

Os resultados de tenacidade do osso cortical estão ilustrados na figura 38. Os animais do grupo Ex obtiveram um aumento de 2% na tenacidade ($p=0,92$), enquanto que o grupo Su obteve uma diminuição de 24% ($p=0,02$), em relação ao grupo C.

Entre os animais obesos, o grupo SaEx obteve uma diminuição de 5% ($p=0,49$), enquanto que o grupo SaSu obteve uma perda de 27% ($p=0,03$) em relação ao grupo C.

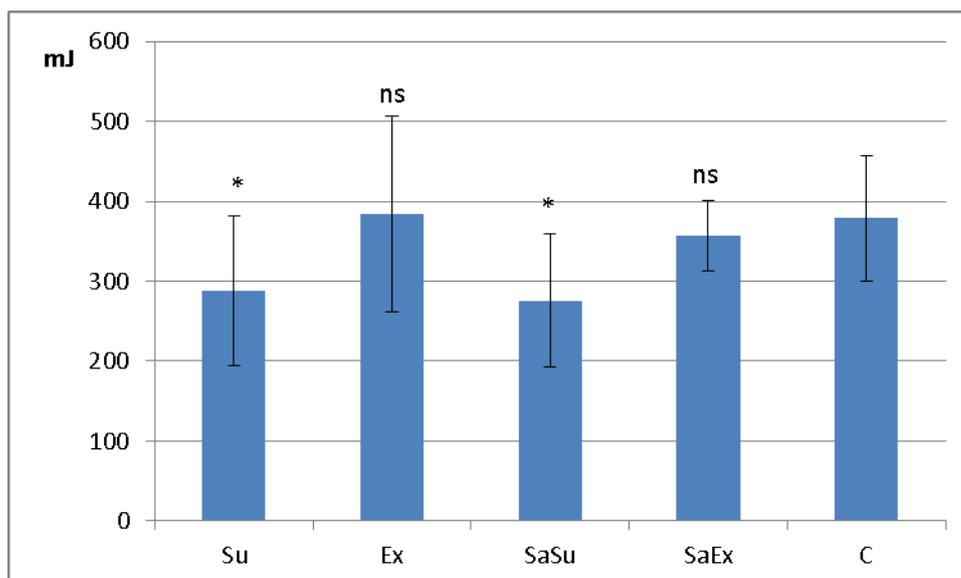


Figura 38. Média e desvio padrão da tenacidade do osso cortical dos animais dos grupos Su, Ex, SaSu e SaEx, em comparação com o grupo C. * $p < 0,05$. ns=não significativo.

Incluindo uma comparação dos animais dos grupos SaEx e SaSu, com os animais do grupo Sa, como ilustra a figura 39, verificamos que a tenacidade do grupo SaEx aumentou em 7% ($p=0,58$), enquanto que o grupo SaSu teve perda de 19% ($p=0,18$).

O grupo Sa obteve uma perda de 11% ($p=0,32$) em relação ao grupo C.

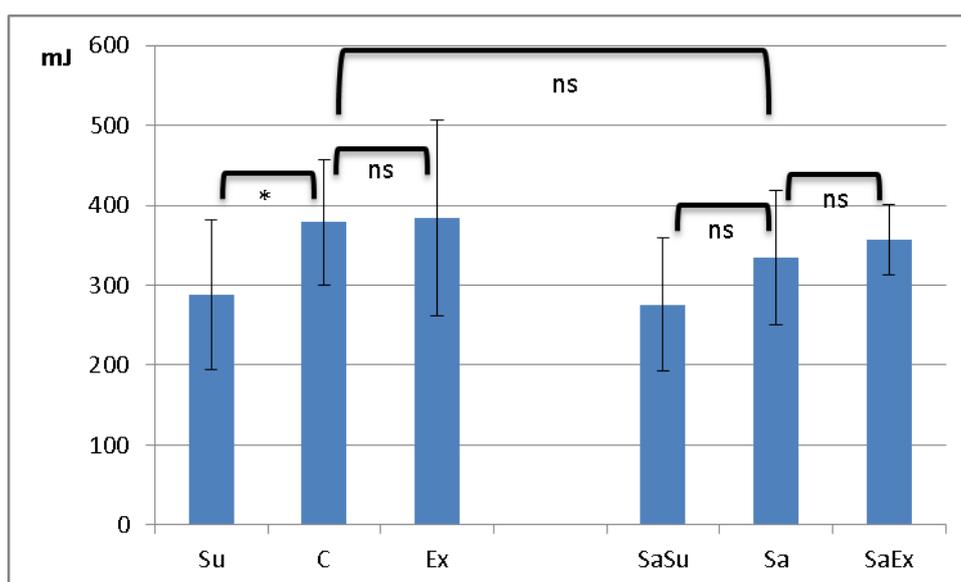


Figura 39. Média e desvio padrão da tenacidade do osso cortical dos animais após a suspensão e os exercícios. * $p < 0,05$ e ns=não significativo para os grupos Su, Ex e Sa em relação ao grupo C, e para os grupos SaSu e SaEx em relação ao grupo Sa.

3.6 Imunoistoquímica: Imunomarcção de osteocalcina e TRAP

A técnica imunoistoquímica empregada para a detecção de OCN (Osteocalcina) e TRAP mostrou alta especificidade para a detecção de tais proteínas, a qual foi comprovada pela ausência total de marcação no controle negativo da reação imunoistoquímica. As imunomarcações se apresentaram com uma coloração acinzentada, confinada ao compartimento citosólico das células imunorreativas (Figura 40).

A imunomarcção para OCN foi expressa predominantemente em osteoblastos e, para TRAP, em osteoclastos. A imunomarcção para OCN nos grupos SaEx e Ex foram onde prevaleceram os maiores padrões de marcações. O Grupo Sa prevaleceu um padrão moderado a alto de marcação. O grupo C prevaleceu moderado padrão de marcação, e os grupos SaSu e Su prevaleceram baixos padrões de marcação de OCN.

A imunomarcção para TRAP foi maior no grupo Su. O grupo Sa prevaleceu moderado a alto padrão de marcação. Os grupos C e SaSu prevaleceram moderado padrão de marcação, e os grupos SaEx e Ex prevaleceram baixo a moderado padrões de marcação.

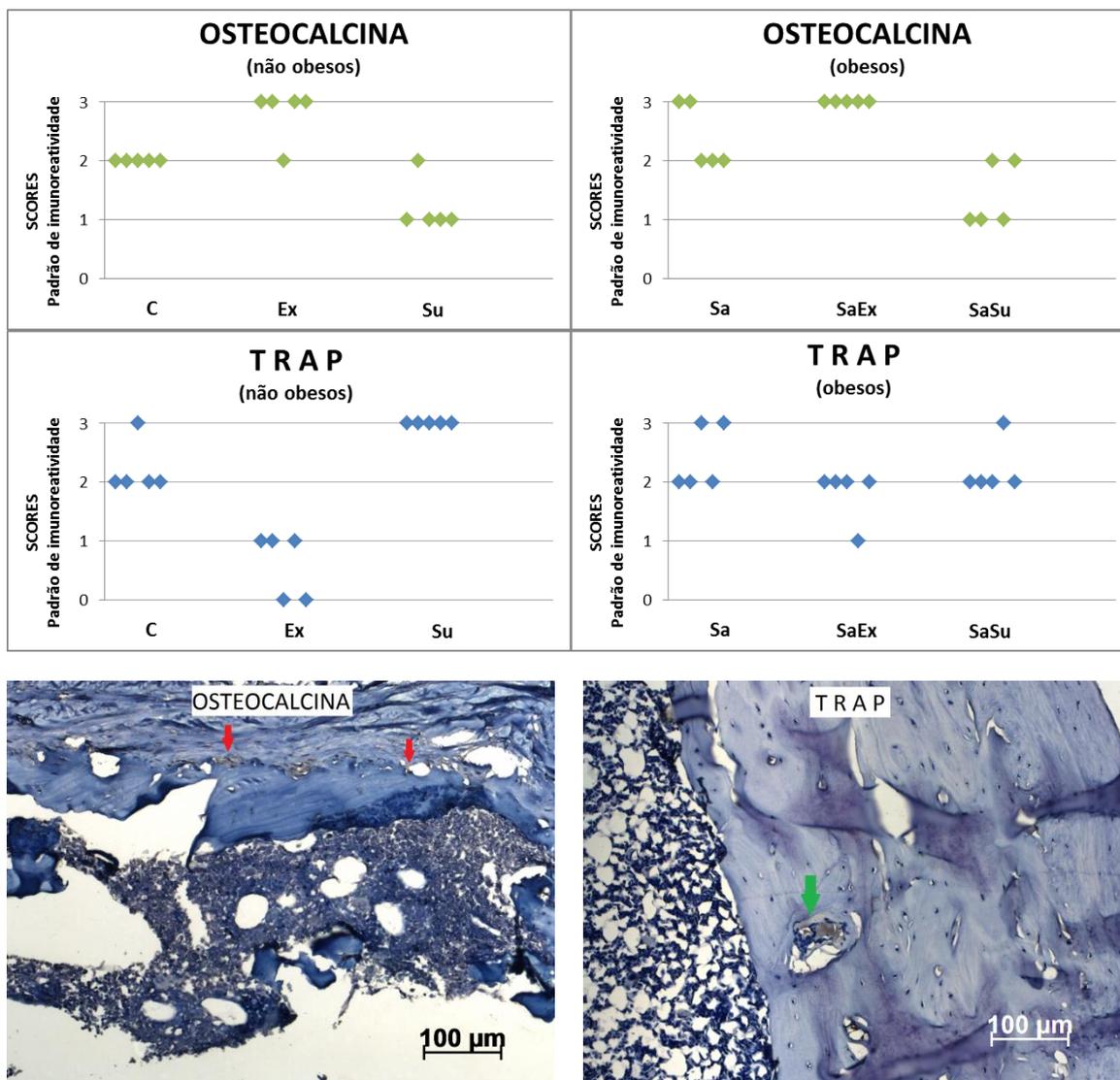


Figura 40. Imunomarcção de OCN e TRAP. Gráficos evidenciando o padrão das imunomarcções, e fotomicrografias mostrando osteoblastos OCN-positivos (setas vermelhas) e osteoclasto TRAP-positivo (seta verde).

4. Discussão

Neste trabalho foi determinada a influência da obesidade sobre vários parâmetros ósseos em ratos da linhagem Wistar, que tiveram osteopenia induzida por meio de suspensão pela cauda, e que realizaram exercícios de força. A suspensão pela cauda, que teve como finalidade eliminar a sinalização de sustentação mecânica dos

ossos, é bem conhecida pela literatura como causadora de osteopenia, ao passo que exercícios de força podem trazer certos benefícios à saúde óssea. Os mecanismos de ação provenientes do estímulo mecânico ainda não estão muito bem esclarecidos, e os resultados encontrados na literatura, especialmente ao que se refere a pessoas obesas e idosas, ainda são um pouco controversos.

A imobilização de um membro leva, em curto espaço de tempo, ao aumento intenso da reabsorção óssea e à osteopenia regional. Aguirre et al. (2006) verificou a apoptose de osteócitos em ratos devido à ausência de carga após o terceiro dia de suspensão. Apesar de não serem conhecidos, até o momento, todos os mecanismos controladores que regulam a quantidade de tecido a ser reabsorvido, diversas outras pesquisas demonstram piora da integridade estrutural óssea por meio da suspensão pela cauda (BORGES et al, 2014; SHIMANO, VOLPON, 2007; VISIGALLI et al, 2010). Estes são indicativos de que a saúde óssea é dependente de estimulação mecânica constante (ROBLING, TURNER, 2009).

Tais resultados estão de acordo com os resultados desta pesquisa. Os 2 grupos de animais submetidos à suspensão pela cauda (Su e SaSu) obtiveram diminuição significativa em todos os parâmetros ósseos analisados, com exceção da área, o que também concorda com os parâmetros imunistoquímicos, demonstrando escores mais altos para atividade osteoclástica (TRAP) e escores baixo para atividade osteoblástica (Osteocalcina). Estes valores também estão de acordo com os resultados do estudo de DUFOUR et al (2006), onde seu estudo verificou que a suspensão de ratos pela cauda causou rápida diminuição do número de osteoblastos na superfície óssea.

Exercícios físicos, pela natureza do movimento, aumentam a carga mecânica sofrida pelo segmento ósseo utilizado. A remodelação contínua dos ossos demonstra a capacidade de adaptação destes, para suportar as cargas de nossas tarefas diárias (BONEWALD, JOHNSON, 2008). Exercícios de força aumentam a carga mecânica do segmento utilizado, podendo promover osteogênese (TURNER, ROBLING, 2005). Há estudos demonstrando que, de fato, a realização de exercícios proporciona efeitos positivos sobre o tecido ósseo (VAL et al, 2013; FRAJACOMO, 2013, COSTA et al, 2012), sugerindo a possibilidade de se utilizar exercícios como meio de fortalecer o

osso. Por outro lado, há estudos demonstrando que o exercício não promoveu benefícios na qualidade óssea de adultos (GAST et al, 2012, NIKANDER, 2010).

No entanto, apesar de forças mecânicas promoverem sinais que mantêm a viabilidade dos osteócitos, o processo de envelhecimento pode prejudicar essa sinalização, diminuindo a resposta que o estresse mecânico causa na síntese óssea (GALVÃO, CASTRO, 2010). Apesar da recomendação popular de se fazer caminhadas para melhorar a saúde óssea em idosos, mais estudos são necessários para se confirmar isso, pois há estudos demonstrando não haver relação. Um amplo estudo feito por GAST et al (2012) analisou o efeito de diversos tipos de exercício em idade avançada no tecido ósseo, e seus achados sugerem que mesmo os exercícios de impacto não interferiram na “taxa de declínio ósseo” decorrente da idade.

A explicação fisiológica para este fato foi primeiramente dada por PARTIFF (1984), onde afirma que o fator fundamental para a perda óssea devido à idade avançada é o desequilíbrio na remodelação óssea. Este desequilíbrio se caracteriza pelo fato dos osteoblastos, responsáveis pela síntese óssea, não conseguirem acompanhar o ritmo dos osteoclastos, responsáveis pela degradação óssea.

Este achado foi igualmente verificado em nosso estudo, ao menos em grande parte. Para os animais idosos e obesos que realizaram exercícios (SaEx), verificamos que, entre todos os parâmetros ósseos analisados, somente o conteúdo mineral ósseo (CMO) dos fêmures obtiveram um aumento significativo. Para o grupo dos animais idosos não obesos (Ex), os exercícios obtiveram um efeito um pouco maior sobre o tecido ósseo. As análises com o densitômetro mostraram que o CMO das tíbias e fêmures e a DMOA das tíbias e fêmures destes animais obtiveram melhoras significativas, porém, os resultados dos ensaios mecânicos mostraram que somente a força máxima admitida nas tíbias obteve melhora significativa. Os parâmetros imunoistoquímicos também demonstram isso, com escores muito baixos (Ex) e moderadamente baixos (SaEx) para atividade osteoclástica (TRAP) e escores altos para atividade osteoblástica (Osteocalcina).

O fato do aumento da mineralização óssea não acompanhar o aumento da resistência óssea em testes de ensaios mecânicos corrobora o estudo feito por AMMANN e RIZZOLI (2003), onde, em seu experimento, detectaram que diminuições significativas de força óssea vertebral foram verificadas após a ovariectomia, antes de

uma diminuição na densidade mineral óssea. Segundo os autores, o que explica isso é o fato da diminuição do osso esponjoso acontecer antes da diminuição da DMO.

O aumento da massa corporal pode agir positivamente no osso. O ganho de massa corporal é comumente adquirido, principalmente, por excesso de calorias ingeridas, por redução de atividade física, ou por estes dois fatores atuando simultaneamente.

Partindo da hipótese de que uma massa corporal maior proporcionaria uma carga mecânica maior nos ossos, resultando em aumento de massa, este não foi o resultado encontrado neste estudo, pelo menos em grande parte. A comparação dos resultados dos animais que somente ingeriram sacarose (Sa) com o grupo controle mostra que a obesidade sozinha aumentou o conteúdo mineral ósseo (CMO) dos fêmures. Em contrapartida, a densidade mineral óssea (DMO) de suas tíbias foi diminuída, e todos os resultados de ensaios mecânicos não mostraram nenhuma diferença significativa proporcionada pela obesidade, o que também concorda com os parâmetros imunistoquímicos, demonstrando escores quase iguais, tanto para atividade osteoclástica (TRAP) quanto para atividade osteoblástica (Osteocalcina).

O que pode explicar essa ausência de significância da obesidade em fortalecer os ossos é o fato de os animais do presente experimento serem idosos. Tais resultados estão de acordo com a explicação de GALVÃO e CASTRO (2010), que atribuem à diminuição da resposta que o estresse mecânico causa na síntese óssea ao processo de envelhecimento.

Se a obesidade causa, de fato, um aumento na carga mecânica aplicada ao segmento ósseo e, conseqüentemente, um aumento da síntese óssea local, os resultados deste estudo sugerem que a idade avançada tem um fator antagonista a este processo, já que, entre todos os parâmetros avaliados, apenas o CMO dos fêmures dos animais obesos que realizaram exercícios obtiveram um aumento significativo. Todos os demais parâmetros permaneceram estatisticamente inalterados.

Um estudo de WHITEFORD et al (2010) feito com homens obesos e idosos corrobora o achado deste estudo, onde os pesquisadores não encontraram diferenças significativas na DMO no grupo que realizou exercícios de força. VILLAREAL et al

(2011) também conduziu um estudo com homens obesos e idosos, e não encontraram alterações significativas na DMO dos segmentos ósseos submetidos à exercícios.

Em jovens, os resultados da literatura demonstram que ainda não há um consenso sobre os reais benefícios na densidade mineral óssea decorrente de exercício de força. Em idosos, esta relação entre exercícios de força e melhora da qualidade óssea pode ser mais improvável ainda, devido ao fato de, como citado anteriormente, a idade avançada poder prejudicar a sinalização mecânica aos osteócitos. O modelamento ósseo parece ser menos responsivo em idosos do que em jovens, e como existem inúmeras formas diferentes de treinamento físico, parece que o tipo de treinamento tem grande influência sobre como o tecido ósseo responde à isso. Este parece ser um provável fator de se encontrar resultados diferentes na literatura, e mais estudos devem ser feitos, levando isso em consideração, para se obter uma melhor compreensão destes mecanismos no futuro.

5. Conclusão

Conclui-se que a falta de uso de um segmento ósseo, em *Rattus norvegicus albinus* em idade avançada, tanto obesos quanto não obesos, leva a um rápido enfraquecimento de todos os parâmetros ósseos. Exercícios produzem moderado efeito positivo nestes animais não obesos e baixo efeito positivo nestes animais obesos.

6. Referências

AIRES, M. M. **Fisiologia**. 3.ed. Guanabara Koogan, p. 1137-1148, 2008.

AGUIRRE et al. **Osteocyte apoptosis is induced by weightlessness in mice and precedes osteoclast recruitment and bone loss**. Journal of bone and mineral research. American Society for Bone and Mineral Research. v.21, n.4, p.605-615, 2006.

AMMANN, P.; RIZZOLI, R. **Bone strength and its determinants**. Osteoporos. Int., v. 14, Suppl. 3, p. S13-S18, 2003.

BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; MARTIN, T. J. **Principles of Bone Biology - Volume 1**. Elsevier, 2008;

BOMPA, T.O. **A periodização no treinamento esportivo**, Manole Ltda., 2001.

BONEWALD, L.F.; JOHNSON, M.L. **Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling**. Bone, v. 42, n.4,p.606-615, 2008.

BORGES, C.H.M.; APOLINÁRIO, J.C.; FLORINDO, P.L.; LOUZADA, M.J.Q. **Contribuição da aplicação do ultrassom de baixa potência na prevenção de osteopenia em tíbias de ratos sob ausência de carga**. Arq. bras. med. vet. zootec; n.66, v.2, p.339-346, 2014.

CARVALHO, A.A.F.; LOUZADA, M.J.Q.; NAKAMUNE, A.C.M.S.; BIFFE, B.G. **Effects of high-sucrose consumption and bone structure and strength in male rats**. Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária de Araçatuba-UNESP, 2009 *in press*.

CHAI, W.; CONROY, S.M.; MASKARINEC, G.; FRANKE, A.A.; PAGANO, I.S.; COONEY, R.V. **Associations between obesity and serum lipid-soluble micronutrients among premenopausal women**. Nutrition Res,v. 30, p. 227-232, 2010.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R.; **Bioquímica Ilustrada**, Porto Alegre: Artmed; 2007.

COSTA, E.L.; BASTOS, P.S.C.; MOURA, M.S.; SOUSA, T.S.; LEMOS, A.; PEDROSA, M.A.C. **Efeitos de um programa de exercícios em grupo sobre a força de preensão manual em idosas com baixa massa óssea**. Arq Bras Endocrinol Metab. v.56, n.5, p.313-318, 2012.

DANTAS, E.M.; PIMENTEL, E.B.; GONÇALVES, C.P.; LUNZ, W.; RODRIGUES, S.L.; MILL, J.G. **Effects of chronic treadmill training on body mass gain and visceral fat accumulation in overfed rats**. Braz J Med Biol Res, v.43, p.515-521, 2010.

DAVIDSON, E.P.; COPPEY, L.J.; CALCUTT, N.A.; OLTMAN, C.L.; YOREK, M.A. **Diet-induced obesity in Sprague-Dawley rats causes microvascular and neural dysfunction**. Diabetes Metab Res Rev; 26:306-318, 2010.

DOUGLAS, C. **Tratado de fisiologia aplicada às ciências médicas** 6^a ed. Guanabara Koogan, 2006.

DUFOUR et al. **Skeletal unloading induces osteoblast apoptosis and targets $\alpha 5\beta 1$ -PI3K-Bcl-2 signaling in rat bone**. ScienceDirect. Elsevier. p.394-403, 2006.

FLEGAL, K.M.; CARROLL, M.D.; OGDEN, C.L.; JOHNSON, C.L. **Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008**. J Am Med Assoc, v.3, n.303, p.235-241, 2010.

FRAJACOMO, F.T.T.FALCAI, M.J., FERNANDES, C.R., SHIMANO, A.C., GARCIA, S.B. **Biomechanical adaptations of rats cortical bone submitted to three different exercise modalities**. Acta Ortopedica Brasileira; 6:328–332, 2013.

GALVÃO, A.P.R.L., CASTRO, M.L. **Abordagem física para prevenção e tratamento de osteoporose**. Arq Bras Endocrinol Metab. v.2, n.54, 2010.

GAST, U., BELAVY, D.L., ARMBRECHT, G., KUSY, K., LEXY, H., RAWER, R., RITTWEGER, J., WINWOOD, K., ZIELINSKI, J., FELSEBERG, D. **Bone density and neuromuscular function in older competitive athletes depend on running distance.** Osteoporos Int, 24:2033–2042, 2013.

GUYTON & HALL. **Tratado de Fisiologia Médica**, 10.ed. Guanabara Koogan, 2006, 917p.

HANSEN M.J., BALL M.J., MORRIS M.J. **Enhanced inhibitory feeding response to alpha-melanocyte stimulating hormone in the diet-induced obese rat.** Brain Res; 892: 130-137. 2001.

HEDLEY, A.A.; OGDEN, C.L.; JOHNSON, C.L.; CARROL, M.D.; CURTIN, L.R.; FLEGAL, K.M. **Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002.** J Am Med Assoc; 291: 2847-2850, 2004.

HOLEMANS, K.; CALUWAERTS, S; POSTON, L.; ASSCHE, A.V. **Diet-induced obesity in the rat: A model for gestational diabetes mellitus.** Am J Obstet Gynecol; 190: 858-65. 2004.

HORNBERGER, T.A.; FARRAR, R.P. **Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat.** Can J Appl Physio, v.1, n.29, p. 16-31, 2004.

LIESCU R., Chade A.R. **Progressive renal vascular proliferation and injury in obese zucker rats.** Microcirculation; 17: 250-8, 2010.

NAGAIH, G.; HAZARD, H.W.; ABRAHAM, J. **Role of obesity and exercise in breast cancer survivors.** Oncology; 24: 342-6, 2010.

NIKANDER, R., SIEVANEN, H., HEINONEM, A., DALY, R.M., UUSI-RASI, K., KANNUS, P. **Targeted exercise against osteoporosis: A systematic review and meta-analysis for optimising bone strength throughout life.** BMC Medicine. v.8, n.47, 2010.

OCARINO, N. M.; SERAKIDES, R. **Efeito da atividade física no osso normal e na prevenção e tratamento da osteoporose**. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 12, n.3, 2006.

PARTIFF, A.M. **Age-related structural changes in trabecular and cortical bone: cellular mechanisms and biomechanical consequences**. Calcif Tissue Int. 1984; 36(Suppl 1)

PINHEIRO, M.M., CICONELLI, R.M., MARTINO, L.A., FERRAZ, M.B. **Clinical risk factors for osteoporotic fractures in Brazilian women and men: the Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS)**. Osteoporos Int.; 20: 399-408. 2009.

ROBLING, A.G., TURNER, C.H., **Mechanical Signaling for Bone Modeling and Remodeling**. National Institute of health, v.4, n.19, 2009.

RYAN, C.S., PETKOV, V.I., ADLER, R.A. **Osteoporosis in men: the value of laboratory testing**. Osteoporos Int 22:1845–1853, 2011.

SARAIVA, G.L., CASTRO, M.L. **Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica**. Arq Bras Endocrinol Metab, v.46, n.1, 2002.

SEIDELL J.C. **The impact of obesity on health status: some implications for health care costs**. Int J Obes Relat Metab Disord; 19: S13–S16. 1998.

SEIBEL, M.J. **Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects**. Osteoporosis Internacional, v.11, p.18-29, 2000.

SHIMANO, M.M., VOLPON, J.B. **Mechanical behavior of rats femoral proximal thirds after a period of tail suspension and exercises**. Acta ortop. Bras; 5: 254-257, 2007.

SILVA, A.V. **Modelo de suspensão pela cauda e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato**. 2002. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Bioengenharia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

SINAKI, M. **Exercise and osteoporosis**. Arch Phys Med Rehabil; 70: 220-9, 1999.

TURNER, C.H.; ROBLING, A.G. **Mechanisms by which exercise improves bone strength**. J Bone Miner Metab. v.23: 16-22, 2009.

VAL, F.F.A., OKUBO, R., FALCAI, M.J., ASANO, F.S., SHIMANO, A.C. **Efeito de regimes de treinamento físico de alto impacto nas propriedades mecânicas de ossos: estudo experimental em ratas wistar**. Rev. bras. med. esporte, 4: 252-255, 2013.

VILARREAL et al. **Weight loss, exercise, or both and physical function in obese older adults**. New England Journal of Medicine, v.13, n. 364, p.1218-29, 2011.

VISIGALLI, D.; STRANGIO, A.; PALMIERI, D.; MANDUCA, P. **Hind limb unloading of mice modulates gene expression at the protein and mRNA level in mesenchymal bone cells**. BMC Musculoskeletal Disorders, v.11, n.147, 2010.

WARMING, L., HASSAGER, C., CHRISTIANSEN, C. **Changes in bone mineral density with age in men and women: a longitudinal study**. Osteoporos Int 13:105–112, 2002.

WHITEFORD, J., ACKLAND, T.R., DHALIWAL, S.S., JAMES, A.P., WOODHOUSE, J.J., PRICE, R., PRINCE, R.L., KERR, D.A. **Effects of a 1-year randomized controlled trial of resistance training on lower limb bone and muscle structure and function in older men**. Osteoporos Int, v.9, n.21, p.1529–1536, 2010.