

# EFEITO DE PROGRAMAS DE TREINAMENTO AERÓBIO E DE FORÇA SOBRE A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE RATAS OOFORECTOMIZADAS

FRANCISCO VALMOR MACEDO CUNHA<sup>1</sup>,  
Estudante de Fisioterapia

ANDRÉA FELINTO MOURA<sup>1</sup>,  
Estudante de Fisioterapia

SÉRGIO ANTÔNIO PEREIRA FREITAS<sup>1</sup>,  
Msc. Ciências e Saúde

EUCÁRIO LEITE MONTEIRO ALVES<sup>1</sup>,  
Dra. Cirurgia Torácica e Cardiovascular

MARIA DO CARMO DE CARVALHO E MARTINS<sup>1, 2</sup>,  
Dra. Ciências Biológicas, Orientadora

<sup>1</sup>Faculdade NOVAFAPI; Depto. Biofísica e Fisiologia/UFPI. Teresina, Piauí, Brasil.  
mccm@ufpi.br

## Introdução

A atividade física, principalmente a de impacto mecânico, tem sido considerada como um iniciador do ciclo de remodelação óssea (MARAFON, 2004) e, treinamentos de força são em especial adotados como medida preventiva da osteoporose (JOVINE; BUCHALA, 2006). O exercício de força tem sido apontado como o principal agente indutor da remodelação e metabolismo ósseos, mas ainda não estão completamente esclarecidos os mecanismos envolvidos nos efeitos do exercício sobre a saúde óssea e sobre o tipo, a intensidade e duração do exercício (MOSER et al, 2004; JOVINE; BUCHALA, 2006; JAMES; CARROL, 2008), embora o efeito osteogênico decorrente da atividade física pareça requerer treinamento caracterizado por grande volume e intensidade (CADORE et al, 2005).

Os ovários são a principal fonte de estrógeno circulante, e existem claras evidências de que a diminuição ou ausência de estrógenos leva à progressiva redução da massa óssea (AMADEI et al, 2006). Assim, após a ooforectomia em jovens, ou na menopausa precoce, pode-se observar acelerada perda óssea com instalação mais rápida da osteoporose (KEEN, 2007).

Ratas ooforectomizadas, devido ao seu pequeno tamanho, facilidade de manipulação e pelas semelhanças com humanos, têm sido amplamente usadas como um modelo animal para simular a perda acelerada de massa óssea pós-menopausa observada em humanos em estudos de osteoporose (TEÓFILO et al, 2003).

Os exercícios físicos apresentam-se como fator importante tanto na terapêutica quanto na prevenção da osteoporose, oferecendo o estímulo mecânico necessário a mudanças no metabolismo ósseo (MATSUDO; MATSUDO, 1991), pois embora os esteróides sexuais sejam importantes na gênese da osteoporose, a inatividade física constitui um fator de risco (OCARINO; SERAKIDES, 2006).

A desmineralização óssea pode ser evitada através da reposição hormonal, da ingestão de cálcio e do exercício físico (HALL; TARANTO, 2000; KEEN, 2007). Diversos autores (MOSER et al, 2004; ALMEIDA; RODRIGUES, 1997; IWAMOTO; TAKEDA; ICHIMURA, 1998) destacam a importância da atividade física durante o período de maturação óssea para otimizar o pico de massa óssea o que resulta em um balanço positivo de massa óssea para a vida adulta ou estímulo remodelador em indivíduos idosos. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo comparar os efeitos de protocolo de exercício aeróbio e de exercício de força sobre a densidade mineral óssea de ratas ooforectomizadas.

## Materiais e Métodos

Ratos Wistar fêmeas (200 a 250g) foram submetidos à ooforectomia e após 40 dias foram divididos aleatoriamente em três grupos (8 animais/grupo), sendo: G1 - Controle

(atividades limitadas dentro da própria gaiola); G2 – programa de natação de intensidade moderada; G3 – programa de exercícios de força.

A ooforectomia foi realizada após anestesia por via intraperitoneal com solução composta por quetamina 40mg/kg e xilazina 5mg/kg de peso corporal (MASSONE, 2003). Incisão mediana de 1,5 cm de comprimento na pele e tela celular subcutânea no dorso do animal abaixo da última costela e duas incisões laterais foram realizadas, e os ovários foram expostos e removidos.

O treinamento de natação consistiu em sessões de 50 minutos diários realizadas 5 dias por semana durante quatro semanas, enquanto o treinamento de força consistiu de 4 séries de dez saltos com intervalo de um minuto entre as séries e sobrecarga de 50% do peso corporal durante cinco sessões semanais por quatro semanas.

O peso corporal em gramas foi determinado no início do experimento, semanalmente e ao final do experimento.

Ao término do período de treinamento, foi realizada eutanásia de todos os animais e foram coletados os fêmures. Amostras de sangue foram obtidas para determinação dos níveis séricos de cálcio, fósforo, albumina, proteínas totais e fosfatase alcalina. As determinações foram realizadas pelo método enzimático colorimétrico, utilizando-se reagentes Labtest

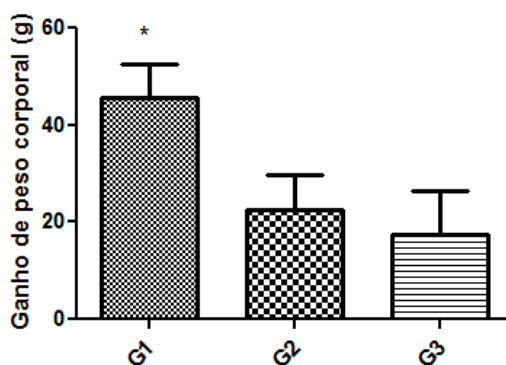
A análise radiográfica foi realizada no fêmur direito utilizando o sistema Digora® (Soredex Orion Corporation). Para isso, foram obtidas imagens digitais dos fêmures através de um sensor e placa óptica do sistema Digora, as imagens foram processadas em software para a análise densitométrica pela densidade radiográfica em áreas de 10x10 pixels na região do triângulo de Ward, sendo utilizado o valor da densidade média para a análise estatística (SILVA et al, 2007; DUTRA et al, 2007).. As radiografias foram obtidas utilizando aparelho marca Dabi Atlante, modelo Spectro 70X, com incidência ântero-posterior e tempo de exposição aos feixes de raios-X de 0,1 segundo.

A análise dos dados foi realizada por teste t pareado para comparação dentro dos grupos, e ANOVA seguida de pós-teste de Tukey para comparação entre grupos. O nível de significância estabelecido foi de  $p < 0,05$ .

Todos os procedimentos foram realizados segundo princípios éticos estabelecidos na experimentação animal pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e pela legislação nacional para vivissecção animal em vigor (Lei federal 11.794, de 08.10.2008). O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa da Faculdade NOVAFAPI através do protocolo 002/2009.

## Resultados

O peso corporal médio dos animais dos diferentes grupos foi semelhante no início do período de treinamento, e também não apresentou diferença estatisticamente significativa ao final do período de treinamento de quatro semanas. Contudo, as ratas ooforectomizadas do grupo G1 apresentaram ganho de peso corporal significativamente maior quando comparados com G2 e G3 (figura 1).



**Figura 1. Ganho de peso corporal dos animais dos grupos controle sedentário (G1), treinado aerobicamente (G2) e treinado anaerobicamente (G3) ao final de 4 semanas de treinamento.\* teste t,  $p < 0,05$  em relação ao G2 e G3.**

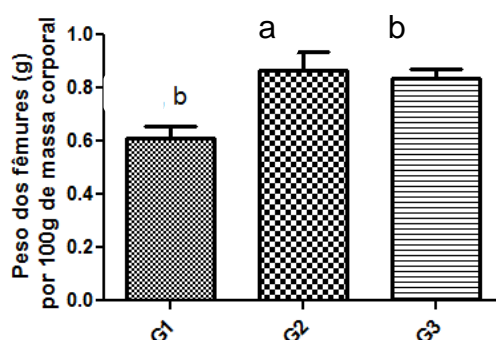
Quanto aos marcadores bioquímicos avaliados (Tabela 1), observou-se que os programas de treinamento aeróbico (G2) e de força (G3) não produziram alterações nos níveis séricos de albumina, proteínas totais e cálcio, mas aumentaram a atividade da fosfatase alcalina ( $p < 0,001$ ) em relação ao grupo controle ooforectomizado sem exercício físico (G1), sugerindo metabolismo ósseo em maior atividade. Os níveis séricos de fósforo foram significativamente maiores ( $p < 0,005$ ) em G1 quando comparado aos grupos G2 e G3. A creatinina sérica estava significativamente aumentada ( $p < 0,05$ ) em G3 se comparado ao G1.

**Tabela 1- Dosagens Bioquímicas de *Rattus norvegicus* submetidas à ooforectomia ao fim de quatro semanas de treinamento físico aeróbico ou anaeróbico, iniciado quarenta dias após a ooforectomia. Teresina, 2010.**

	G1 (8 animais)	G2 (8 animais)	G3 (8 animais)
Albumina (g/dL)	3,14±0,25	3,126±0,21	3,455±0,22
Proteínas Totais (g/dL)	7,80±0,35	6,993±0,14	7,426±0,36
Cálcio (mg/dL)	10,50±0,53	9,856±0,15	9,985±0,28
Fósforo(mg/dL)	7,06±0,36	4,971±0,47 <sup>a</sup>	4,955±0,34 <sup>a</sup>
Fosfatase Alcalina (U/L)	37,14±2,94	75,04±7,66 <sup>b</sup>	69,13±6,47 <sup>b</sup>
Creatinina (mg/dL)	0,43±0,044	0,500±0,06	0,629±0,035 <sup>c</sup>

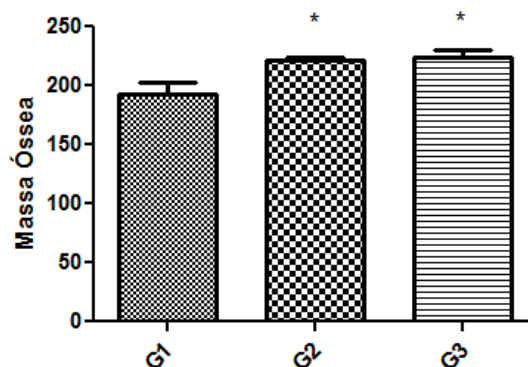
ANOVA e pós teste de Tukey: <sup>a</sup> $p < 0,005$  em relação ao G1; <sup>b</sup> $p < 0,001$  em relação ao G1; <sup>c</sup> $p < 0,05$  em relação ao G1.

Na figura 1 observa-se que os dois regimes de treinamento utilizados produziram efeito semelhante de aumento ( $p < 0,01$ ) no peso relativo dos fêmures em relação ao grupo controle (G1).



**Figura 2 - Peso relativo do fêmur esquerdo (g/100g de peso corporal) de *Rattus norvegicus* ao fim de quatro semanas de treinamento físico aeróbico ou anaeróbico, iniciado quarenta dias após ooforectomia. Teresina, 2010. ANOVA e pós-teste de Tukey: <sup>a</sup> $p < 0,005$  em relação à G1; <sup>b</sup> $p < 0,01$  em relação à G1.**

Observou-se que os grupos ooforectomizados submetidos a treinamento aeróbico (G2) e de força (G3) apresentaram aumento significativo ( $p < 0,01$ ) na densidade óssea determinada por análise radiográfica no nível do trígono de Ward quando comparados com o grupo controle. Contudo, não foram encontradas diferenças entre os dois tipos de treinamento.



**Figura 3 – Densidade óssea determinada por análise radiográfica do trígono de Ward do fêmur direito de *Rattus norvegicus* ao fim de quatro semanas de treinamento físico aeróbico ou anaeróbico, iniciado quarenta dias após a ooforectomia. Teresina, 2010. ANOVA e pós-teste de Tukey: \*p<0,01 em relação ao G1.**

### Discussão

A queda nos níveis de estrógenos aumenta o risco de doenças cardiovasculares, de osteoporose, de disfunções sexuais, e leva a aumento das lipoproteínas plasmáticas e do ganho ponderal. Nesse estudo, o treinamento físico de natação (G2) e de força (G3) não produziram aumento da massa corporal dos grupos submetidos a protocolo de natação (G2) ou de salto (G3) em animais ooforectomizados, enquanto a ooforectomia resultou em aumento significativo da massa corporal. Nesse sentido, Rennó et al (2007) avaliando animais ooforectomizados e pseudo-ooforectomizados não treinados e treinados com programa de exercícios de carga progressiva, observou maior ganho de peso e maior massa corporal nos animais ooforectomizados sedentários. Høegh-Andersen et al (2004) em estudo com ratas castradas e pseudo-castradas observou aumento significativo da massa corporal dos animais castrados em relação ao grupo pseudo ao fim de nove semanas. Estes resultados corroboram com os encontrados neste estudo revelando tendência a ganho de peso em animais ooforectomizadas devido à privação dos hormônios ovarianos.

A análise dos marcadores bioquímicos de remodelação óssea realizada no presente estudo evidenciou efeitos dos programas de treinamento realizados nos grupos G2 e G3 aumentando a atividade da fosfatase alcalina e reduzindo os níveis de fósforo sérico, embora não tenham alterado os níveis de cálcio sérico. Concordantemente, Netto et al (2006) em estudo avaliando animais ooforectomizados não encontrou diferenças nas concentrações séricas de cálcio entre os grupos, e demonstrou aumento na atividade da fosfatase alcalina, além de ter observado diminuição da concentração de cálcio ósseo. Adicionalmente, Iwamoto; Takeda; Ichimura (1998) encontraram maiores níveis de fosfatase alcalina e osteocalcina em animais submetidos à treinamento aeróbico em esteira 1 hora/dia à 12 m/min em relação ao grupo controle sedentário. Por outro lado, Tenório (2005) em estudo com camundongos fêmeas ooforectomizadas, pseudo-ooforectomizadas e normais observou diminuição do cálcio sérico no grupo ooforectomizado treinado em relação aos demais grupos, e Finkelman et al (1992) observaram redução no cálcio sérico e aumento na concentração de fósforo no grupo de animais ovariectomizados quando comparado ao controle. O aumento da atividade da fosfatase alcalina sugere aumento da atividade osteoblástica indicando formação de osteóide e deposição de matriz colagenosa, o qual se constitui em melhor indicador de formação óssea do que os níveis séricos de cálcio, que são mantidos sob estreito controle principalmente pelo paratormônio e não são específicos para esse processo (LAPIN, 2007).

A medida de densidade óssea revelou que os programas de treinamento aqui utilizados produziu aumento significativo da massa óssea em relação ao grupo controle ooforectomizado, o que também é evidenciado pelo aumento do peso do fêmur dos animais treinados. Tenório (2005) avaliando camundongos ooforectomizados e pseudoovarictomizados submetidos ou

não a treinamento aeróbio de caminhada em esteira durante 30 dias com velocidade constante de 20m/min e com duração progressiva (aumento da duração de exercício) durante 5 semanas, observaram diminuição da concentração sérica de cálcio e aumento do peso do fêmur no grupo ovariectomizado treinado em comparação aos demais grupos. Iwamoto; Takeda; Ichimura (1998) encontraram aumento significativo da densidade mineral óssea da tíbia de animais treinados aerobicamente com caminhada em esteira, cinco vezes na semana (EXP 1: 12m/min, 1 hora/dia; EXP 2: 18m/min, 1 hora/dia; EXP 3: 12m/min, 2 horas/dia) ao fim de 12 semanas em relação ao grupo controle. Netto et al (2006) através da avaliação das escalas de cinza observou menor densidade no grupo ooforectomizado se comparado ao grupo não ooforectomizado. Abrahão, Shimano; Picado (2006) realizaram estudo com animais normais, ovariectomizados e ovariectomizados exercitados em gaiola giratória (0,31 m/s) durante 30 minutos, 5 vezes na semana durante nove semanas e observaram maior carga e maior deformação no limite máximo dos fêmures se comparado aos animais normais. Contrariamente, Rennó (2007) não encontrou diferença significativa nos valores de densidade mineral óssea medida através das cinzas e da densidade óssea entre os animais ooforectomizados e pseudo-ooforectomizados.

Em revisão sistemática realizada por Jovine; Buchalla (2006) com artigos compreendidos no período de 1985 a 2005 em 2 bases de dados houve predominância de trabalhos com melhores resultados para a saúde óssea com exercício resistido durante longos períodos de treinamento em detrimento aos trabalhos com atividade física aeróbia. A atividade física demonstrou efeitos diretos sobre a densidade mineral óssea principalmente em estudos que avaliaram vértebras lombares, enquanto em estudos que analisaram a densidade óssea do colo do fêmur os resultados foram modestos revelando valores no ganho da densidade óssea não significativos do ponto de vista biológico e clínico (MOAYYERI, 2008). Em estudo realizado com 100 mulheres com idades entre 36 e 76 anos em processo de menopausa ou na pós-menopausa em que foi observado que a ingestão de cálcio e a prática de atividade física, embora não tenham produzido aumento da massa óssea minimizaram a perda óssea, evidenciando um efeito protetor e não formador ósseo como pressuposto (ALMEIDA; RODRIGUES, 1997).

Os grupos de animais ooforectomizados submetidos a treinamento de natação ou de força apresentaram maior massa óssea e perfil bioquímico sugestivo de remodelação óssea, notadamente aumento da atividade da fosfatase alcalina, em relação aos animais ooforectomizados sedentários. Contudo, não houve diferenças na massa óssea de animais submetidos a treinamento aeróbico ou anaeróbico. Ressalta-se a importância de novos estudos utilizando maior período de treinamento a fim de confirmar as tendências reveladas nesta pesquisa, bem como incluindo avaliações de marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo como a osteocalcina, e avaliações histológicas para determinar as repercussões na arquitetura óssea.

## Referências

- ABRAHÃO, G. S.; SHIMANO, A. C.; PICADO, C. H. F. Efeito da Atividade física sobre as propriedades mecânicas dos fêmures e tíbias de ratas osteopênicas. **Acta ortopédica Brasileira**, vol. 14, n. 5, 2006.
- ALMEIDA JR, B. R.; RODRIGUES, R. L.. Influência da Atividade Física e da Ingestão de Cálcio na Osteoporose. **Revista Motriz**. Vol. 3, n. 1, jun, 1997.
- AMADEI, S.U.; SILVEIRA, V. A.S.; PEREIRA, A. C.; CARVALHO, Y.R.; ROCHA, R. F. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. **Bras. Patol. Med. Lab**, v.42, n.1, p.5-12, 2006.
- CADORE, E.L.; BRENTANO, M.A.; KRUEL, L. F. M. Efeitos da atividade física na densidade mineral **Rev Bras Med Esporte**. Vol. 11, n. 6, p. 373-9, 2005
- DUTRA, G. M. C.; WIENANDTS, P.; COSTA. N. P.; ARAÚJO, F. B. Avaliação da densidade óptica da superfície oclusal através de radiografias digitalizadas e sua relação com a presença

de lesões de cárie em molares decíduos. **Rev. Odonto Ciência – ODONTO/PUCRS**, V.22, N. 57, P.222-226, 2007.

HALL, S. J.; TARANTO, G. **Biomecânica básica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

HØEGH-ANDERSEN, TANKÓ, P.; László, B; ANDERSEN, T. L; LUNDBERG, C.; MO, John A.; HEEGAARD, DELAISSÉ A.. M.; CHRISTGAU Jean-Marie; Stephan. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. **Arthritis Res Ther**, 2004.

IWAMOTO, J.; TAKEDA, T.; ICHIMURA, S. Effects of exercise on bone mineral density in mature osteopenic rats. **Journal on Bone and Mineral Research**. Vol. 13, n.8, 1998.

JAMES, M. M.; CARROLL, S.. Meta-analysis of walking for preservation of bone mineral density in postmenopausal women. **Bone**, vol. 43, 521-531, 2008.

JOVINE, M. S.; BUCHALLA, C. M.; SANTARÉM, E. M. M.; SANTARÉM, J. M.; ALDRIGHI, J. M. Efeito do treinamento resistido sobre a osteoporose após a menopausa: um estudo de atualização. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. Vol. 9, n. 4, pág. 493 – 505, 2006.

KEEN, R.. Osteoporosis: Strategies for prevention and management. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, Vol. 21, No. 1, pág. 109 - 122, 2007.

LAPIN, L. P.. Respostas metabólicas e hormonais ao exercício físico. **Revista Brasileira de Educação Física, Esporte, Lazer e Dança**. São Paulo, v. 2, n. 4, p. 115-124, dez. 2007.

MARAFON, D. P.; WORM, F. B.; CAYE, L.; MAFFACIOLI, R.; ISLABÃO, A. G.; STAUB, H. L. Paratormônio e tratamento da osteoporose. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 14, n.2, p. 140-149, abr/jun, 2004.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária. Farmacologia e técnicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 344 p.

MATSUDO, S. M. M.; MATSUDO, V. K. R. Osteoporose e atividade física. **Revista brasileira de Ciência do Movimento**, v. 5, n. 3, p. 33-55, 1991.

MOAYYERI, A.. The Association Between Physical Activity and Osteoporotic Fractures: A Review of the Evidence and Implications for Future Research. **AEP**, vol. 18, n. 11, 827–835, 2008.

MOSER, D. C.; MELO, S. I. L.; SANTOS, S. G.. Influência da Atividade Física sobre a massa óssea de mulheres. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desenvolvimento Humano**. Vol. 6, n. 1, pág. 46 – 53, 2004.

NETTO, C. C.; FRANCO, M.; CUNHA, M. S. C. A.; MIYASAKA, C. A. Efeitos da Ovariectomia Experimental no metabolismo ósseo de ratas wistar adultas: um modelo para estudo da osteoporose. **Revista Brasileira de Ciências Médicas e Biológicas**. Salvador, vol. 5, n. 3, p. 231, 2006.

OCARINO, N. M; SERAKIDES, R. Efeito da atividade física no osso normal e na prevenção e tratamento da osteoporose. **Rev Bras Med Esporte**, v. 12, n. 3, mai/jun, 2006.

RENNÓ, A. C. M.; FAGANELLO, F. R.; MOURA, F. M.; SANTOS, N. S. A.; TIRICO, R. P.; BOSSINI, R. A.; ZUANON, J. A.; NETO, C. B.; PAROZOTTO, N. A.. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. **Acta Ortopédica Brasileira**, vol. 15, n. 5, 2007.

SILVA, A. R. S.; RIBEIRO, A. C. P.; SALZEDAS, L. M. P.; SOUBHIA, A. M. P.; SUNDEFELD, M. L. M. M. Análise da densidade óssea radiográfica de ratos submetidos ao alcoolismo crônico utilizando imagem digital. **Rev Odonto Ciência – Faculd Odonto/PUCRS**, v. 22, n. 55, p. 77-80, 2007.

TENÓRIO, A. S.; ALVES, S. B.; BEZERRA, A. L.; SOUZA, G. M. L.; ALMEIDA CASTANHO, M. T. J.; TASHIRO, T.; GALINDO, J. C. M.; MORAES, S. R. A.. Efeito do treinamento físico sobre o tecido ósseo e concentração sérica de cálcio em camundongos fêmeas ovariectomizadas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol. 20, n. 4, 2005.

TEÓFILO, J.M.; AZEVEDO, A.C.B.; PETENUSCI, S.O.; MAZARO, R.; LAMANO-CARVALHO, T.L. Comparison between two experimental protocols to promote osteoporosis in the maxilla and proximal tibia of female rats. **Pesqui Odontol Bras**, v. 17, n. 4, p. 302-306, 2003.

FINKELMAN, R. D.; BELL, N. H.; STRONG, D. D.; DEMERS, L. M.; BAYLINK, D. J. Ovariectomy selectively reduces the concentration of transforming growth factor  $\beta$  in rat bone: Implications for estrogen deficiency – associated bone loss. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, vol. 89, 1992.

Rua Manfins, nº 3621, Bairro Satélite, CEP – 64059-470.  
Telefone Residencial: (86)3231-5730 Celular: (86)8857-1652  
E-mail: orfeueuridice@yahoo.com.br