

# EFEITO DO EXERCÍCIO DE NATAÇÃO SOBRE O OSSO ESPONJOSO DE RATAS OVARIETOMIZADAS

SUELI NICOLAU BOARO

CARLOS ALBERTO ANARUMA

FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil; IB/UNESP, Rio Claro, SP, Brasil

e-mail: [sueli@fct.unesp.br](mailto:sueli@fct.unesp.br); [anaruma@rc.unesp.br](mailto:anaruma@rc.unesp.br)

## Introdução

O osso é um tecido que serve de suporte para as partes moles e de reservatório de diversos íons dentre eles o cálcio (STEVENS e LOWE, 1997). No envelhecimento, o processo de reabsorção excede a formação de osso e com isto inicia-se a fase de perda óssea que recebe o nome de osteoporose. O mesmo processo ocorre quando se utiliza a técnica de ovariectomia para induzir a menopausa (KALU, 1991). A osteoporose se caracteriza por perda silenciosa e assintomática de massa óssea levando a fragilidade e enfraquecimento dos ossos que se torna susceptível a fraturas (COTRAN et al., 1997). A osteoporose atualmente, devido ao envelhecimento da população mundial, vem sendo um problema de saúde pública. A osteoporose se instala através de dois mecanismos principais: aumento da atividade dos osteoclastos (células que absorvem o osso), resultando em uma reabsorção óssea acelerada, ou na diminuição de osteoblastos (células repositivas) levando a uma remodelação óssea inadequada. Dentre esses fatores de neoformação óssea, encontra-se a atividade física, entre outros, responsável pelas alterações locais e gerais dos tecidos orgânicos, que irão influenciar a formação dos ossos. Assim, seu papel tanto para o controle como para a prevenção da osteoporose é defendida por diversos autores, devido a sua participação na gênese e mineralização dos ossos, bem como na distribuição do fluxo sanguíneo ósseo e muscular e sua ação mecânica provocada pelo exercício sobre a densidade e formação óssea. Acredita-se que exercícios que produzam forças de tração, compressão e torção são os mais eficazes para a prevenção da osteoporose em indivíduos idosos, sendo o mais preconizado para isto a musculação, porém pouco se sabe sobre o poder dos exercícios, após a instalação de um quadro de osteoporose, sobre a manutenção da integridade óssea. Assim, nosso objetivo foi o de verificar se, depois de instalada a menopausa através da ovariectomia, um protocolo de exercícios seria suficiente para controlar ou minimizar a perda da densidade óssea ou a manutenção da micro-arquitetura do osso esponjo e do osso compacto que compõem um osso longo.

## Metodologia

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética processo 223/2007. Foram utilizadas 20 ratas Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*), com idade de 60 dias. Todos os animais foram alimentados com ração balanceada padrão (Purina) e água "ad libitum", distribuídas, 5 ratas em cada gaiola, à temperatura ambiente controlada a 25° C e fotoperíodo de 12h claro/ 12h escuro. As ratas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos de cinco animais denominados: 1-Sedentário Controle (S): Ratas não submetida ao protocolo de treinamento, não ovariectomizadas; 2- Sedentário Castrado (SC): Ratas ovariectomizadas não submetidas ao protocolo de treinamento; 3- Treinado Controle (T): Treinadas apenas; 4- Treinado Castrado (TC): Realizaram o protocolo de treinamento e foram ovariectomizadas. As ratas foram anestesiadas com pentobarbital de sódio a 2% via intraperitoneal e a ovariectomia foi realizada. As ratas foram colocadas em gaiola limpa com Dipirona sódica dissolvida na água durante os primeiros dois dias após a cirurgia. O protocolo de treinamento consistiu de natação, cinco vezes por semana, no decorrer de nove semanas. Na primeira semana as ratas passaram por um período de adaptação ao meio líquido por um período de 20 minutos durante cinco dias, nadando sem sobrecarga. Após esse período, passaram a utilizar uma sobrecarga equivalente a 5% de seus respectivos pesos corporais, acoplada com elástico a seu tronco. Nas semanas

seguintes á adaptação o tempo de treinamento foi aumentado em 5 minutos por semana, terminando na nona semana com o tempo de 60 minutos. A temperatura da água foi mantida entre 31° e 32° graus, considerada termicamente neutra em relação à temperatura corporal do rato. Os animais foram pesados para a avaliação da massa corporal, uma vez por semana durante todo o experimento por uma balança semi - analítica. Este procedimento foi realizado sempre no último dia da semana. Após o período de 9 semanas de treinamento, os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina e o fêmur de ambos os foi coletado para a microscopia eletrônica. O terço médio da diáfise, e este foi fixado em solução de Karnovisk por 48 horas e foi dividido longitudinalmente para que a medula óssea pudesse ser retirada através de jatos, com auxílio de uma seringa, de soro fisiológico. Este procedimento permitiu que o osso esponjoso da parede interna do segmento fosse exposto. Posteriormente o material foi desidratado, seco em aparelho de ponto crítico e metalizado com ouro. O material foi observado em Microscópio Eletrônico de Varredura Philips (Laboratório do Departamento de Biologia- IB- UNESP-RC). A análise estatística foi feita através da análise de variância e teste complementar “t” de Student, e Bonferroni.

## Resultados

Para certificarmos que as ratas estavam menopausadas, através da ovariectomia, foi feita a observação de atrofia do útero. Em alguns casos o útero estava inexistente ou não foi encontrado. O controle do peso corporal dos animais estudados foi conferido semanalmente, apresentando um ganho de peso maior nos grupos castrados (SC e TC), relacionando o peso inicial dos grupos, e seus respectivos pesos finais, e o ganho de peso em porcentagem, como observado na tabela 1.

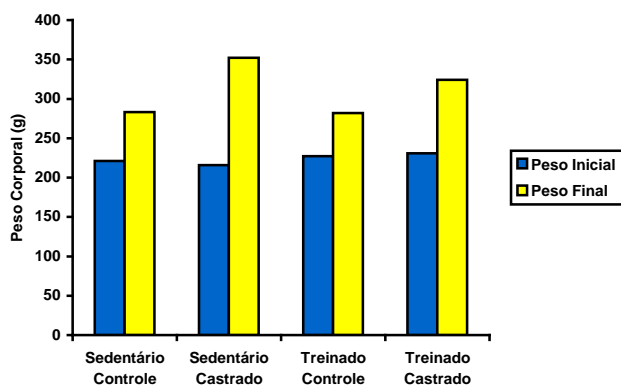
**TABELA 1-** Peso corporal inicial (PI), peso corporal final (PF), e ganho de peso (GP). Calculado pela porcentagem de  $GP = PF - PI$ , em (g).

Grupos Experimentais	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (%)
Sedentário Controle (n=5)	221 ± 9,6	282,8±16,6	28,1
Sedentário Castrado (n=5)	216 ± 6,5	351,8 ± 14,6	63,0
Treinado Controle (n=5)	227 ± 4,4	281,6 ± 7,7	24,2
Treinado Castrado (n=5)	231 ± 12,4	323,6 ± 30,5	40,3

Resultados em Média ± Desvio Padrão para  $P > 0,05$ .

O ganho de peso dos grupos apresentados na tabela 1, é demonstrado pelo gráfico 1.

**Gráfico 1** - Peso corporal inicial equiparado com o peso corporal final dos grupos experimentais, em (g).



O Gráfico 1, revela um aumento significativo do peso final dos grupos castrados (SC e TC), e um aumento esperado dos grupos (S e T).

Qualitativamente os ossos das ratas sedentárias não apresentaram o osso esponjoso que preenche a cavidade óssea (Fig. 1). O interior destes ossos não estava ocupado por qualquer estrutura que lembre a existência de um trabeculado ósseo que forma o osso esponjoso, e que deveria preencher esta região. Já nos ossos das ratas submetidas ao exercício de natação, houve a preservação do osso esponjoso que preenche a cavidade óssea (Fig. 2). Fica evidente que o trabeculado ósseo formado no interior dos fêmures dos animais do grupo T (Fig. 3) é mais robusto e conseqüentemente mais forte que o trabeculado encontrado nos ossos dos animais dos demais grupos. Uma análise mais pormenorizada do tecido ósseo nos mostra que nestas espículas, assim como em toda a superfície endosteal dos ossos dos animais do grupo sedentário (S e SC), estavam presentes osteoclastos em evidente atividade fagocítica na superfície, tanto das espículas ósseas como na superfície endosteal além de alguns osteoblastos (Fig.4). Esta atividade fagocítica revela na superfície endosteal as escavações produzidas pelos osteoclastos. Em menor aumento também foram observados os canais de Volkman, já que nestes animais do grupo S e SC a ausência do osso esponjoso no canal medular permitia esta observação. Nos animais do grupo treinado pode ser observado que as espículas que formam o osso esponjoso eram mais numerosas e robustas nos animais do grupo T do que no grupo TC (Fig. 5). Nestes animais, apesar da presença das espículas, estas eram mais delgadas se comparadas às do grupo T.

### **Discussão**

O tecido ósseo é depositado e reabsorvido continuamente, entretanto, com a idade, na menopausa, os folículos ovarianos deixam de ser ativos, da mesma forma que ocorre na ovariectomia. A parada no desenvolvimento folicular resulta em diminuição da produção do hormônio estrogênio, chegando a praticamente zero (DELLING; GLUECKSELING, 1971; HARRISON, 1996; SIMINOSKI e JOSSE, 1996) e com isso o tamanho do útero começa a regredir chegando até mesmo a desaparecer como encontrado nesta pesquisa. De acordo com Yamasaki e Yamaguchi (1989) em ambas as espécies a perda de material ósseo é maior no osso esponjoso do que no osso cortical o que vem a corroborar com a presente pesquisa. Com relação ao trabeculado ósseo os resultados deste trabalho também foram demonstrados por Cardoso Netto et al. (2006) e Reddy e Lakshmana (2003). Os autores Tervo et al. (2009), observaram estudando homens jovens que a redução do exercício leva a redução do osso esponjoso e em menor grau no osso cortical. Ao estudar a tíbia proximal de ratas, os autores Waarsing et al. (2006), notaram que as alterações na organização da arquitetura óssea ocorrida após a ovariectomia são similares as alterações que ocorrem no envelhecimento normal dos animais. Os autores sugerem que o estrógeno ao se esgotar resulta em aceleração do processo de adaptação normal do osso. A perda óssea em ratas jovens ovariectomizadas de acordo com O'Louchin e Howard (1994) é devida à redução absorção de cálcio intestinal e aumento da excreção de cálcio via tracto gastrointestinal. Yamazaki e Yamaguchi (1989). Arisawa et al. (2000), constataram que a administração do hormônio calcitonina em ratas ovariectomizadas, logo após a observar osteoporose pode favorecer a regeneração mais rápida do defeito ósseo.

### **Conclusão**

O aspecto encontrado, nesta pesquisa, nos ossos das ratas treinadas permite concluir que a resistência a traumas está aumentada nestes ossos, já que podem escoar as forças a que o osso é submetido com maior eficiência do que nos ossos das ratas sedentárias. De acordo com os resultados apresentados, a ovariectomia em ratas é eficiente para o aparecimento da osteoporose, evidenciado pela observação do maior número de osteoclastos e pela ausência de espículas e trabéculas ósseas no grupo sedentário castrado. Sendo essas características amenizadas e controladas com o exercício de natação, observadas no grupo treinado castrado. O aumento do peso corporal, e destruição da micro-arquitetura óssea, foram identificados em

decorrência da ovariectomia para os grupos sedentários castrados e treinados castrados. Estes mais acentuados no grupo sedentário, fazendo crer que o exercício de natação, apesar de não ser o mais indicado para o tratamento da osteoporose, se mostrou eficiente no caso de ratas ovariectomizadas. Portanto, a realização de um protocolo de exercício de natação promove a manutenção da micro-arquitetura do osso, sendo assim, um exercício que poderá ser preconizado para a prevenção de fraturas em indivíduos osteoporóticos.

## Figuras

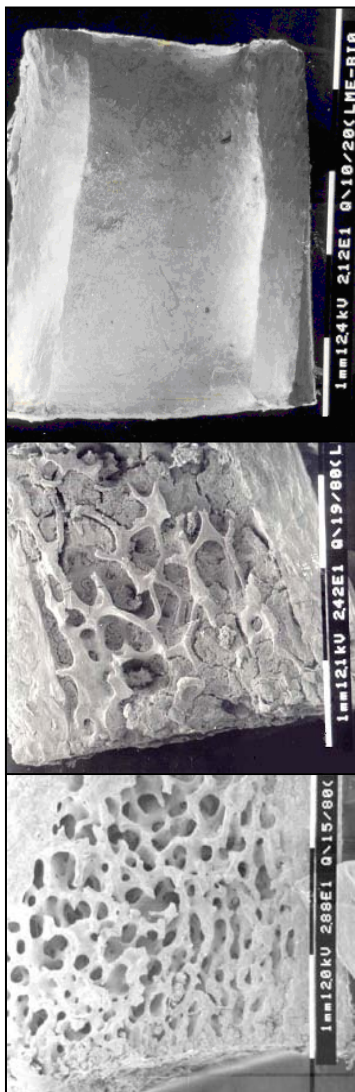


Figura 1. Fotomicrografia eletrônica da superfície endosteal da diáfise do fêmur de rata do grupo (S) onde se observa a parede óssea da diáfise e a ausência das trabéculas do osso esponjoso em seu canal medular quando comparado ao grupo controle (T). MEV. Barra= 1 mm.

Figura 2. Fotomicrografia eletrônica da superfície endosteal da diáfise do fêmur de rata do grupo (TC) onde se observa diferença na espessura e no conteúdo trabeculado do osso esponjoso quando comparado ao grupo (T). MEV. Barra= 1 mm.

Figura 3. Fotomicrografia eletrônica da superfície endosteal da diáfise do fêmur de rata do grupo (T). Observar a diferença na espessura e no padrão do trabeculado do osso esponjoso comparado ao grupo controle (TC) e ao grupo (S). MEV. Barra=1 mm

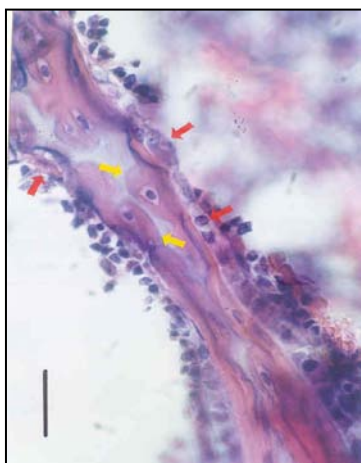


Figura 4. Fotomicrografia de tecido ósseo. Observar nas espículas ósseas osteoclastos aderidos a seus sítios de escavação (setas vermelhas) e poucos osteoblastos produzindo novo osso (setas amarelas). H/E. Barra = 30 µm.



Figura 5. Fotomicrografia eletrônica mostrando detalhe do trabeculado do osso esponjoso de animais de animal do grupo (T). Barra= 1mm.

## Referências

- ARISAWA, E. A. L.; ROCHA, R. F.; CARVALHO, Y. R.; MORAES, E.; ALMEIDA, J. D. Influência da calcitonina na reparação óssea de tíbias de ratas ovariectomizadas. *Pós-Grad. Ver. Fac. Odontol.* São José dos Campos, v.3, n.1, 2000.
- BONFERRONI, C. E. Multiple significance tests: the Bonferroni Method. *BMJ*, v. 310, p. 170, 1995.
- CARDOSO NETTO, C.; FRANCO, M.; CUNHA, M. S. C. A.; MIYASAKA, C.K. Efeitos da ovariectomia experimental no metabolismo ósseo de ratas wistar adultas: um modelo para estudo da osteoporose. *R. Ci. Bil.* Salvador, v.5, n.3, p.231-238, 2006.
- DELLING, G.; GLUECKSELING, W. The effect of calcitnin on the regeneration of circumscribed tibia defect and in mineral contents of bone in the rat. *J. Med. Sci.*, v.7, n.3, p. 367-378, 1971.
- HARRISON, T. R. *Medicina interna*. 13. ed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill, Interamericana, 1996. 2765 p.
- DELLING, G.; GLUECKSELING, W. The effect of calcitnin on the regeneration of circumscribed tibia defect and in mineral contents of bone in the rat. *J. Med. Sci.*, v.7, n.3, p. 367-378, 1971.
- O'LOUCHIN, P. D.; HOWARD, A. M. Oophorectomy in young rats impairs calcium balance by increasing intestinal calcium secretin. *J. Nutr.* V. 124, p.726-731, 1994.
- REDDY, N. P.; LAKSHMANA, M. Prevention of bone loss in calcium deficient ovariectomized rats by OST- 6, a herbal preparation. *J. Ethnopharmacol.*, Limerick, v. 84, p.259- 264, 2003.
- SIMINOSKI, K.; JOSSE, R. G. Calcitonin in the treatment of osteoporosi. *Can. Med. Assoc. J.* v. 155, n. 7, p. 962-965, 1996.
- TERVO, T. T.; NORDSTRÖM, P.; NEOVIUS, M.; NORDSTRÖM, A. Reduced physical activity corresponds with greater boné loss at the trabecular than the cortical boné sites: A 12-year prospective cohort study of young Swedish men. *Bone*, v. 44, p. S270-S271, 2009.

YAMASAKI, I.; YAMAGUCHI, H. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. *Bone Miner. Res.*, v. 4, n. 1, p. 13- 22, 1989.

WAARSING, J. H.; DAY, J. S.; VERHAAR, J A.N.; EDERVEEN A.G. H.; WEINANS, H. Bone loss dynamics result in trabecular alignment in aging and ovariectomized. *J. Orthop. Res.* v. 24, n. 5, p. 926-935, 2006.

Sueli Nicolau Boaro, tel: (18) 32295345 ramal 5599, e-mail [sueli@fct.unesp.br](mailto:sueli@fct.unesp.br)  
Prof. principal da artigo