

EFEITOS DO TREINAMENTO EM NATAÇÃO SOBRE PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS DO FÊMUR DE RATAS OVARIETOMIZADAS

EFFECTS OF SWIMMING TRAINING ON FEMORAL MECHANICAL AND STRUCTURAL PROPERTIES IN OVARIETOMIZED FEMALE RATS

**Bárbara Braga FERNANDES¹; Ricardo Junqueira DEL CARLO²;
 Maria do Carmo Gouveia PELUZIO³; Lucas Rios DRUMMOND⁴;
 Carlos Henrique Osório SILVA⁵; Mário Jefferson Quirino LOUZADA⁶;
 Juliana Silveira FREITAS⁷; Cynthia Aparecida CASTRO⁸; Karina Ana Silva⁹;
 Antonio Jose NATALI¹⁰**

1. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Educação Física - UFV, Viçosa, MG, Brasil, barbara_bbf@yahoo.com.br. 2. Professor, Doutor, Departamento de Medicina Veterinária - UFV, Viçosa, MG, Brasil. 3. Professora, Doutora, Departamento de Nutrição e Saúde - UFV, Viçosa, MG, Brasil. 4. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Educação Física - UFV, Viçosa, MG, Brasil. 5. Professor, Doutor, Departamento de Estatística - UFV, Viçosa, MG, Brasil. 6. Professor, Doutor, Escola de Medicina Veterinária- Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, SP, Brasil. 7, 8, 9. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Educação Física - UFV, Viçosa, MG, Brasil. 10. Professor, Doutor, Departamento de Educação Física - UFV, Viçosa, MG, Brasil, anatali@ufv.br.

RESUMO: Investigamos os efeitos do treinamento em natação (TN) sobre propriedades mecânicas e estruturais do fêmur de ratas ovariectomizadas. Ratas Wistar com peso corporal (PC) de $271,42 \pm 17,6$ g e 20 semanas de idade foram submetidas à ovariectomia (OVX) ou laparotomia (SHAM) e alocadas em grupos: natação OVX (NO, n=12), controle OVX (CO, n=12), natação SHAM (NS, n=12) e controle SHAM (CS, n=12). Quinze dias pós-cirurgia NO e NS foram submetidos ao TN (60 min/dia, 5 dias/semana, sobrecarga progressiva até 3% do PC) por 10 semanas. Análises da atividade de fosfatase alcalina óssea demonstraram ser menores para os animais OVX comparados com os SHAM ($23,91 \pm 11,64$ pg/mL vs. $57,29 \pm 16,24$ pg/mL, respectivamente) não foram alteradas pelo TN. As ratas SHAM apresentaram mais osso trabecular no colo do fêmur que as OVX ($255,50 \pm 38,27$ vs $288,75 \pm 39,63$ pontos, respectivamente). As ratas exercitadas exibiram mais osso trabecular que as controles ($292,00 \pm 33,54$ vs $251,54 \pm 38,99$ pontos, respectivamente) nesta região e no trocanter maior ($281,50 \pm 34,42$ vs $237,23 \pm 53,03$ pontos; respectivamente). A densidade mineral óssea e a massa de osso cortical do terço médio do fêmur não foram alteradas pela OVX ou TN. A força máxima e a tenacidade do terço médio e do colo do fêmur não foram afetadas pela OVX ou TN. Concluiu-se que o treinamento em natação aplicado beneficiou a massa óssea na região proximal do fêmur de ratas, independentemente da ovariectomia, o que não refletiu em melhora das propriedades mecânicas, seja no colo ou na diáfise do fêmur.

PALAVRAS-CHAVE: Exercício físico. Osteopenia. Fratura óssea.

INTRODUÇÃO

A deficiência de estrogênio induz o declínio da densidade mineral óssea (DMO) e aumenta o risco de desenvolvimento de osteopenia, osteoporose e fratura (BAGI et al., 1997; PARK et al., 2008; KARAGUZEL; HOLICK, 2010). Além disso, produz importantes alterações no metabolismo lipídico, na distribuição da gordura e no peso corporal (SHINODA; LATOU; LOVOIE, 2002; SAENGSIRISUWAN et al., 2009).

As forças de tensão, compressão e cisalhamento geradas pelo suporte do peso corporal e pelas contrações musculares durante o exercício físico constituem estímulos importantes para a formação óssea (BERGMANN et al., 2011) e desempenham papel importante para minimizar a perda óssea em mulheres pós-menopausa (CHEIN et

al., 2000; VON STENGEL et al., 2011) e em ratas ovariectomizadas (HONDA et al., 2003; OCARINO et al., 2007). Modificações no estilo de vida, especialmente na dieta, e a adoção da prática regular de atividade física, podem prevenir ou retardar os efeitos deletérios da deficiência de estrogênio sobre o osso (BERGMANN et al., 2011; COHEN; ROE, 2000; GUADALUPE-GRAU et al., 2009).

As atividades físicas mais intensas e de maior impacto causam maiores estímulos osteogênicos (VANIONPAA et al. 2007; WELCH et al., 2008), todavia, nem sempre estas atividades podem ser executadas por indivíduos portadores de fragilidade óssea, tornando a natação uma alternativa atraente. Há indicações que o treinamento em natação promove adaptações benéficas nas propriedades estruturais e mecânicas do osso pois, embora não produza impacto, é capaz

de estimular a osteogênese como consequência das contrações musculares (HUANG et al., 2003; HUANG et al., 2010).

Considerando que são poucos e inconclusivos os estudos que investigaram os efeitos do treinamento em natação sobre propriedades estruturais e mecânicas de indivíduos com osteopenia induzida por deficiência de estrogênio (HART et al., 2001; MELTON et al., 2004). O presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos do treinamento de natação sobre propriedades mecânicas e estruturais do fêmur de ratas ovariectomizadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Ratas Wistar adultas [idade: 20 semanas; peso corporal (PC): 271,42 ± 17,6g] foram alojadas em sala com temperatura controlada (22±2°C) e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro (luzes eram apagadas às 19:00hs e acendidas às 07:00hs). Os animais permaneceram em gaiolas individuais e receberam, diariamente, ração comercial e água *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, sendo aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da

Universidade Federal de Viçosa (Parecer nº 02/2009).

Vinte e quatro ratas foram submetidas à ovariectomia bilateral (OVX) e outras 24 à laparotomia, sem a retirada dos ovários (SHAM). Previamente, foram anestesiadas (cetamina, 20mg/kg e xilazina, 2,71mg/kg IM) e receberam anti-inflamatório (flunixin meglumina, 0,68mg/kg IM) e antibiótico (enrofloxacin, 2,71mg/kg IM). A seguir, as ratas OVX foram alocadas aleatoriamente em grupos: natação OVX (NO, n=12) e controle OVX (CO, n=12); e as ratas SHAM foram alocadas nos grupos natação SHAM (NS, n=12) e controle SHAM (CS, n=12).

Quinze dias após as cirurgias, os animais dos grupos NO e NS foram submetidos a um programa de natação com sobrecarga e duração progressivas por 10 semanas (Tabela 1). O exercício foi realizado durante a fase clara do fotoperíodo em um tanque de alvenaria quadrado (45 cm de profundidade, 55 cm de largura e comprimento) com água a temperatura média de 30±2°C. A sobrecarga de treino, calculada em porcentagem do peso corporal do animal, foi aplicada conforme Tabela 1, usando-se arruelas de metal atadas ao tórax do animal por uma tira elástica.

Tabela 1. Sobrecarga e duração do treino em natação ao longo de 10 semanas.

Semana	Sobrecarga (% do peso corporal)	Duração (minutos)
1	0%	30
2	1%	50
3 a 6	2%	60
7 a 10	3%	60

Adaptado de HUANG et al. (2003)

Com o objetivo de avaliar a eficiência do treinamento aplicado na melhora do desempenho físico das ratas para a natação, todas foram submetidas a um teste de resistência à natação 48 horas após a última sessão de treino. Os animais foram colocados no tanque e nadaram com carga de quatro por cento (4%) do peso corporal (carga considerada abaixo do limiar de lactato para ratos, de acordo com GOBATTO et al., 2001; VOLTARELLI; GOBATTO; MELO, 2002), o maior tempo possível até a exaustão, que foi identificada quando o animal permanecia por 15 segundos submersos na água sem nadar. O tempo máximo de natação até a exaustão foi adotado como desempenho físico do animal para a natação.

Após eutanásia, uma amostra de sangue (2mL) foi coletada por punção cardíaca, transferida para tubo de ensaio, centrifugada e armazenada em

freezer a -80°C para posterior análise da concentração sérica de fosfatase alcalina óssea, um marcador de formação óssea. Esta análise foi realizada por meio da técnica de quimioluminescência indireta (Access® - EUA) a partir da curva padrão de 6 pontos, usando-se kit comercial (Ostase®, Beckman Coulter - EUA).

A seguir, o fêmur direito foi removido e o osso, livre dos tecidos moles, foi envolvido em gaze embebida em solução salina e armazenado em freezer (-20°C) para análise da densidade mineral óssea (DMO) em densitômetro ósseo de raios-X (LUNAR DPX-ALPHA® - EUA), equipado com software para pequenos animais. A DMO foi obtida após a mensuração da área e do conteúdo mineral do fêmur (CMO), usando-se a equação DMO (g/cm²) = CMO (g) / área (cm²).

A análise da resistência óssea à fratura foi realizada no mesmo fêmur direito, logo após a análise da DMO, conforme Vicentini et al. (2007), em máquina universal de ensaio (EMIC®, modelo DL 3000*), com carga aplicada a velocidade de 5mm/min. Um sistema computadorizado acoplado ao aparelho registrou a força aplicada (carga) e o deslocamento, em intervalos padronizados de tempos definidos pelo programa. A análise foi realizada tanto no colo do fêmur (com predomínio de osso esponjoso) como também no terço médio da diáfise (com predomínio de osso cortical). Na diáfise femural foi realizado ensaio de flexão simples em três pontos, que consistiu em apoiar o fêmur sob dois suportes distanciados entre si em 20mm, sendo a carga aplicada no centro da amostra utilizando uma célula de carga de 2000N. A cada incremento de carga aplicada ao material, o *software*

no microcomputador automaticamente registrava a deformação correspondente (frequência de 60Hz), e em seguida, plotava os dados em gráfico correspondente à carga por deformação/deslocamento (Figura 1). A partir dos gráficos, foram obtidas a força máxima para ruptura (maior força aplicada à amostra até a fratura) e a tenacidade (energia absorvida pelo osso) das amostras. O ensaio de flexão no colo do fêmur foi realizado no mesmo equipamento descrito acima com a amostra fixada em um aparato mecânico que mantinha o fêmur em posição vertical. Os dados da força máxima necessária para promover fratura foram normalizados pelo peso corporal e estão apresentados em N/g. Os dados da tenacidade foram normalizados pelo peso corporal e estão apresentados em J/g.

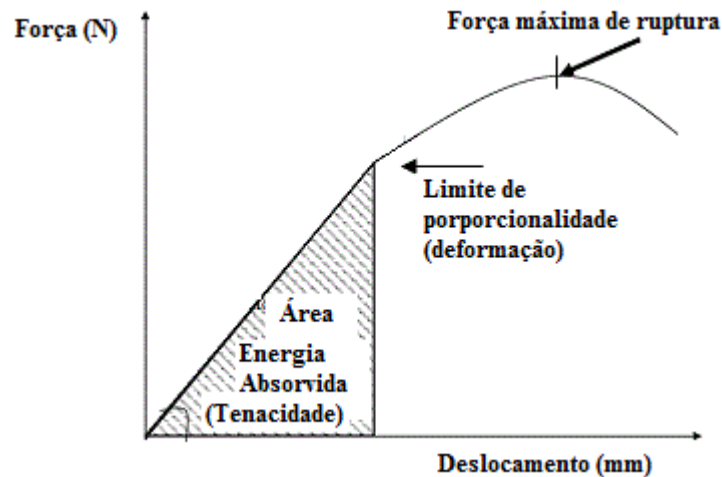


Figura 1. Representação esquemática da curva da carga de deformação por deslocamento de um teste de três pontos para osso.

O fêmur esquerdo também foi removido e o osso, livre dos tecidos moles, foi fixado em formol tamponado em temperatura ambiente por 10 dias. Posteriormente, o osso foi colocado em cuba descalcificadora contendo solução com citrato de sódio, água destilada e ácido fórmico por oito dias. Após a descalcificação, foram feitos cortes transversais e longitudinais, removendo-se o trocanter maior, o colo juntamente com a cabeça, e um fragmento do terço médio da diáfise do fêmur. Estes fragmentos foram colocados, novamente, na cuba descalcificadora, agora armazenados em cassetes por sete dias. Posteriormente, os fragmentos foram colocados em álcool 70%, 80% e 90%, em álcool absoluto e xilol em partes iguais e xilol absoluto, para posterior inclusão em parafina. Em seguida, foram obtidos cortes de 5 μ m de espessura que foram montados em lâminas

histológicas e corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

A análise histomorfométrica dos cortes histológicos foi feita usando-se o sistema para análises *Image-Pro Plus*, versão 4.5.0.29. As imagens foram digitalizadas utilizando-se um fotomicroscópio (Olympus Biological CX31) com ocular de 10x e objetiva de 20x para análise do osso trabecular e objetiva de 4x para análise do osso cortical (programa *analySIS® getIT*). Para a quantificação do osso trabecular no trocanter maior e colo do fêmur foram feitas cinco imagens por animal, em campos distintos, para garantir maior fidelidade dos resultados encontrados. Em cada imagem foram contados cem pontos por imagem capturada, distribuídos sobre o tecido ósseo e outros componentes (tecido mielóide). Foi mensurada toda a região que continha tecido ósseo e foi utilizada a

média simples dos pontos como resultado. Para a mensuração da espessura cortical no terço médio da diáfise do fêmur foram feitas duas imagens por animal, em campos distintos, e foram feitas dez medidas por campo. A média simples das medidas foi usada como resultado.

A pressuposição de homogeneidade de variâncias entre os grupos foi checada e quando não atendida optou-se pelo procedimento não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Para o procedimento paramétrico adotou-se a ANOVA de duas entradas, seguida do teste de Tukey (a 5%) ou com ajustamento do valor p por Tukey-Kramér quando os dados eram desbalanceados. Os dados estão apresentados como média e desvio padrão. Todas as análises foram implementadas no software SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC-www.sas.com/offices/latinamerica/brazil/) versão 9.1.

RESULTADOS

Os resultados mostram que os animais treinados em natação, tanto as ratas OVX quanto as SHAM, apresentaram maior ($p < 0,05$) desempenho físico para a natação que as respectivas controles (NO = $145,9 \pm 18,4$ min vs. CO = $42,7 \pm 7,2$ min; NS = $89,1 \pm 15,1$ min vs. CS = $28,5 \pm 5,8$ min).

Os dados do peso corporal dos animais dos grupos experimentais estão apresentados na Tabela

2. No início do experimento não houve diferença de PC entre os animais dos quatro grupos ($p > 0,05$). Porém, após 15 dias de cirurgia, os animais OVX apresentaram maior ($p < 0,05$) peso corporal, em relação aos SHAM ($305,0 \pm 21,2$ g vs $268,8 \pm 17,5$ g, respectivamente), independentemente do fator exercício. Esta diferença permaneceu ao final do experimento (OVX = $344,42 \pm 22,95$ g vs SHAM = $293,88 \pm 24,85$ g, respectivamente). Todavia, não foi observado efeito do exercício (NATAÇÃO = $315,79 \pm 33,53$ g vs CONTROLE = $322,50 \pm 36,46$ g) e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício no peso corporal final ($p > 0,05$).

Os dados da concentração sérica de fosfatase alcalina óssea não apresentaram distribuição normal, por isso são apresentados em mediana. Observou-se que a fosfatase alcalina óssea não foi diferente entre os grupos experimentais e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,5$). Porém, a fosfatase alcalina óssea foi influenciada pela cirurgia, pois foi menor (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) nos animais OVX, quando comparada à dos SHAM ($18,87$ pg/mL vs. $53,93$ pg/mL, respectivamente), independente do fator exercício. O fator exercício não afetou a concentração de fosfatase alcalina ($p > 0,5$), de forma independente do fator cirurgia (NATAÇÃO = $28,37$ pg/mL vs. CONTROLE = $28,53$ pg/mL).

Tabela 2. Peso corporal dos animais dos grupos experimentais.

	NO (n=12)	NS (n=12)	CO (n=12)	CS (n=12)
PC inicial (g)	272,3±17,9	271,7±19,4	272,0±17,8	271,1±18,1
PC 15 dias pós-cirurgia (g)	306,8±22,4	271,3±15,9	303,2±19,9	266,8±19,1
PC final (g)	341,6±20,9	290,0±21,5	347,3±22,5	297,8±28,2

NO = natação OVX; NS = natação SHAM; CO = controle OVX; CS = controle SHAM; PC = peso corporal; n = número de animais. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

Os resultados da DMO e do CMO do fêmur dos animais dos grupos experimentais estão apresentados na Figura 2. Não houve influência dos fatores cirurgia e exercício na DMO, de forma independente, e não houve interação entre estes fatores ($p > 0,05$, Fig. 2A). Da mesma forma, o CMO não foi influenciado pelos fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$), de forma independente, e não houve interação entre estes fatores ($p > 0,05$, Figura 2B).

A Tabela 3 contém os dados da morfometria do osso trabecular no trocanter maior e no colo do fêmur, e do osso cortical na diáfise do fêmur dos animais dos grupos experimentais. Observa-se que

não houve diferença entre os grupos experimentais na quantidade de osso trabecular no colo do fêmur e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$). Todavia, a quantidade de osso trabecular no colo do fêmur foi menor ($p < 0,05$) nas ratas OVX, comparadas às SHAM ($255,50 \pm 38,27$ pontos vs $288,75 \pm 39,63$ pontos, respectivamente), independentemente do fator exercício. Por outro lado, a quantidade de osso trabecular no colo do fêmur foi maior nas ratas que exercitaram, em relação às controles ($292,00 \pm 33,54$ pontos vs $251,54 \pm 38,99$ pontos, respectivamente), independentemente da cirurgia.

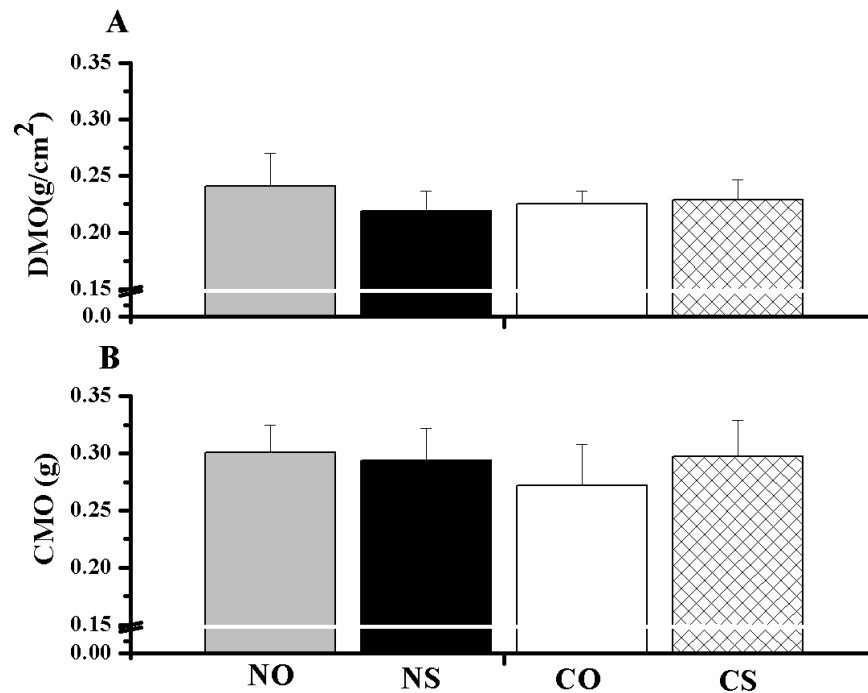


Figura 2. (A) Densidade mineral óssea (DMO) e (B) conteúdo mineral ósseo do fêmur dos animais dos grupos experimentais. NO = natação OVX; NS = natação SHAM; CO = controle OVX; CS = controle SHAM. Dados expressos como média \pm desvio padrão de 12 animais por grupo.

Tabela 3. Morfometria do osso trabecular no trocanter maior e colo e osso cortical na diáfise do fêmur dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Grupos	Trocanter (pontos)	Colo (pontos)	Osso cortical diáfise (μm)
NO (n = 12)	282,0 \pm 23,9	277,3 \pm 35,6	84,3 \pm 13,8
NS (n = 12)	281,0 \pm 45,1	306,7 \pm 26,5	82,6 \pm 11,3
CO (n = 12)	226,8 \pm 28,6	233,7 \pm 28,5	82,5 \pm 11,6
CS (n = 12)	245,5 \pm 42,4	270,8 \pm 44,6	81,2 \pm 16,3

Dados expressos em média \pm desvio padrão. NO = natação OVX; NS = natação SHAM; CO = controle OVX; CS = controle SHAM. n = número de animais.

Em relação ao trocanter, da mesma forma, não houve diferença entre os grupos experimentais na quantidade de osso trabecular nesta região e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$). A quantidade de osso trabecular no trocanter maior não foi afetada pelo fator cirurgia ($p > 0,05$), independentemente do exercício. Porém, a massa óssea no trocanter foi aumentada pelo fator exercício (NATAÇÃO = 281,50 \pm 34,42 pontos vs CONTROLE = 237,23 \pm 53,03 pontos; $p < 0,05$), independentemente da cirurgia.

Quanto à quantidade de osso cortical na diáfise do fêmur, não houve diferença entre os grupos e não houve interação entre os fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$). A quantidade de osso

cortical na diáfise do fêmur não foi influenciada pelos fatores cirurgia e exercício ($p < 0,05$).

A força máxima necessária para promover fratura do terço médio do fêmur não foi afetada pelos fatores cirurgia e exercício ($p < 0,05$), de forma independente, e não houve interação entre estes fatores ($p > 0,05$, Fig. 3A). O mesmo ocorreu no colo do fêmur ($p > 0,05$, Figura 3B).

A tenacidade do fêmur não teve influência dos fatores cirurgia e exercício ($p > 0,05$), de forma independente, e não houve interação entre estes fatores ($p > 0,05$), tanto no colo (NO = 0,3 \pm 0,02 $\times 10^{-3}$ J/g; NS = 0,3 \pm 0,01 $\times 10^{-3}$ J/g; CO = 0,2 \pm 0,06 $\times 10^{-3}$ J/g; CS = 0,2 \pm 0,06 $\times 10^{-3}$ J/g) quanto no terço médio do fêmur (NO = 0,3 \pm 0,01 $\times 10^{-3}$ J/g;

NS = $0,3 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ J/g; CO = $0,2 \pm 0,08 \times 10^{-3}$ J/g; CS = $0,2 \pm 0,07 \times 10^{-3}$ J/g).

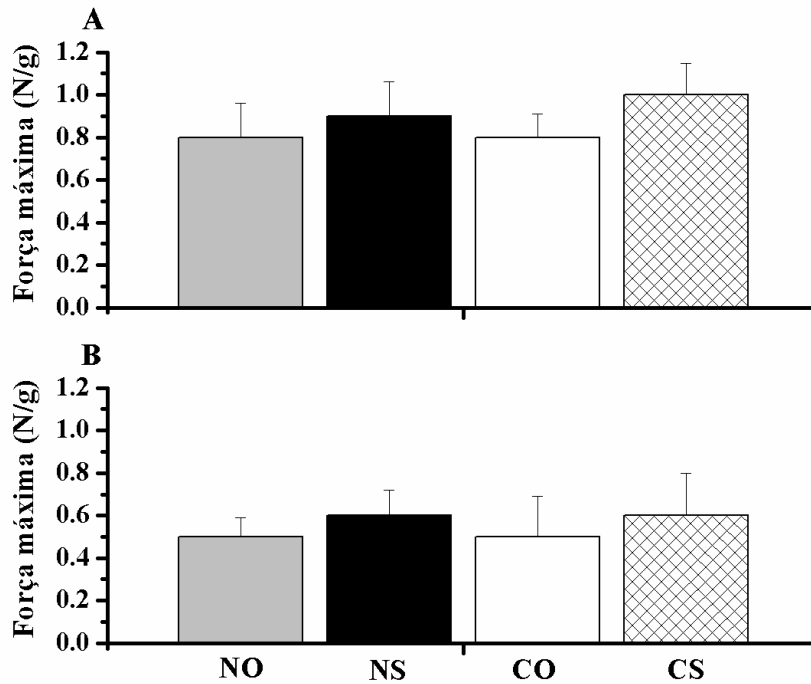


Figura 3. Força máxima de fratura do terço médio da diáfise (A) e do colo (B) do fêmur dos animais dos grupos experimentais. NO = natação OVX; NS = natação SHAM; CO = controle OVX; CS = controle SHAM. Dados expressos como média \pm desvio padrão de 12 animais por grupo.

DISCUSSÃO

Este estudo foi desenhado para investigar os efeitos de um programa de treinamento em natação (TN) sobre propriedades mecânicas e estruturais do fêmur de ratas ovariectomizadas.

O programa de natação usado melhorou a capacidade aeróbia das ratas treinadas que foi refletida no melhor desempenho físico quando comparado ao teste aplicado nas ratas não treinadas. A capacidade das ratas treinadas, tanto as OVX quanto SHAM, de nadar com carga abaixo do limiar de lactato por um tempo maior que as controles, independentemente da cirurgia, confirmou a maior capacidade aeróbia do grupo (HONDA et al., 2003).

As ratas OVX apresentaram menores valores de fosfatase alcalina óssea que as SHAM. A maior concentração deste marcador de formação óssea nas ratas SHAM demonstra que estas apresentaram maior formação óssea em relação às OVX. A deficiência de estrogênio em ratas OVX resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea temporariamente sem contraposição, o que resulta em osteopenia (TROMP et al., 2006; BONNET et al., 2007; D'AMELIO et al., 2008).

Também, as ratas OVX apresentaram maior peso corporal em relação às ratas SHAM. Este resultado está de acordo com os existentes na literatura onde ratas OVX apresentam maior ganho de peso corporal devido a alterações no metabolismo lipídico provocadas pela deficiência de estrogênio (SHINODA; LATOU; LOVOIE, 2002; SAENGSIRISUWAN et al., 2009).

A deficiência de estrogênio, ocasionada pela ovariectomia, não afetou o CMO e a DMO ao exame de densitometria, cujos resultados permitem inferir que o tempo que o fêmur permaneceu sob influência de baixos níveis de estrogênio não foi suficiente para causar redução importante no CMO e na DMO. Todavia, este resultado, obtido por aquele método de diagnóstico e nestas circunstâncias, deve ser visto com cautela, pois além das ratas OVX apresentarem menores valores de fosfatase alcalina, os dados da morfometria demonstraram que a deficiência de estrogênio promoveu perda óssea no colo do fêmur, mormente no osso esponjoso.

Possivelmente, as diferenças relacionadas a maior intensidade do metabolismo do osso esponjoso em relação ao cortical (TROMP et al., 2006) justifique a perda de massa óssea no colo do

fêmur (osso esponjoso), sem afetar a massa óssea no terço médio de fêmur (osso cortical).

O treinamento em natação, por outro lado, aumentou a quantidade de osso trabecular no colo e no trocanter maior do fêmur das ratas treinadas, independentemente da cirurgia. Apesar da natação não envolver impacto na estrutura óssea, as contrações musculares repetidas durante a natação promove importante estímulo osteogênico (HUANG et al., 2003; HUANG et al., 2010). As contrações musculares atuam diretamente sobre os ossos produzindo estímulo osteogênico e grande parte da tensão sofrida pelo osso é transmitida pela força muscular, o que beneficia diretamente a remodelação resultando em aumento da deposição óssea (HUGUES et al., 1995; IWAMOTO; YEH; ALOIA, 1999; FONSECA et al., 2011). Há evidências que a atividade física melhora a massa óssea de ratas com osteoporose induzida pela ovariectomia por aumentar a atividade osteoblástica, a conexão entre os osteócitos (OCARINO et al., 2007) e por aumentar a diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais (OCARRINO et al., 2008). Os dados do presente estudo reforçam a importância do exercício regular para a saúde óssea, visto que há grande incidência de fraturas na região do colo do fêmur (GUADALUPE-GRAU et al., 2009; RADOMINSKI et al., 2004). Assim, mesmo os indivíduos com alguma fragilidade óssea e incapazes de realizar exercícios de impacto, como a corrida, podem se beneficiar da natação.

Apesar do aumento da massa óssea no colo do fêmur das ratas em resposta ao TN, isto não resultou no aumento da força de fratura e da tenacidade nesta região do fêmur destes animais. Ressalte-se que o colo do fêmur apresentou um quadro de osteopenia, confirmado pelos exames

morfométricos, que se recuperou ao longo do período de natação e que foi capaz de suplantar a massa óssea do grupo controle. Este fato reflete incorporação de osso novo, mas dentro dos valores normais considerados para a espécie, sem aumentar os valores para a força máxima capaz de promover fratura. No ensaio de três pontos realizado a incorporação do osso não foi capaz de proporcionar aumentos significativos nestas propriedades mecânicas do colo do fêmur.

Da mesma forma, não houve alteração da força máxima e da tenacidade no terço médio do fêmur das ratas. Este dado é consistente com a manutenção dos níveis de massa óssea desta região em resposta ao TN. Possivelmente, a deficiência de estrogênio e o TN não influenciaram esta região do fêmur em virtude do osso cortical responder a estes estímulos mais lentamente que o osso esponjoso⁽²²⁾. Destaque-se que o efeito da atividade física no tratamento da osteoporose também depende do osso estudado (OCARINO et al., 2007) e do momento em que a atividade física é realizada, ou seja, se antes e/ou após a indução da osteoporose (OCARINO et al., 2009).

Em conclusão, o treinamento em natação beneficia a massa óssea na região proximal do fêmur (ex. colo e trocanter), independentemente da ovariectomia, o que não refletiu em melhora nas propriedades mecânicas seja no colo ou na diáfise femoral.

AGRADECIMENTOS

Estudo financiado pela FAPEMIG (CDS-APQ-02373/09); AJ Natali, MCG Pelúzio e RJ Del Carlo são bolsistas de Produtividade do CNPq.

ABSTRACT: We investigated the effects of swimming training (ST) on femoral mechanical and structural properties in ovariectomized female rats. Female Wistar rats [age = 20 weeks; body weight (BW) = 271,42 ± 17,6 g] were subjected to ovariectomy (OVX) or laparotomy (SHAM) and allocated to one of the following groups: swimming OVX (SO, n=12), control OVX (CO, n=12), swimming SHAM (SS, n=12) and control SHAM (CS, n=12). Fifteen days after surgery SO and SS groups were subjected to a ST (60 min/day, 5 days/week, overload of 3% of BW) for 10 weeks. Alkaline phosphatase was reduced in OVX as compared to SHAM (18,87 pg/mL vs. 53,93 pg/mL, respectively), but not altered by ST. Animals SHAM showed more cancellous bone than OVX (255,50 ± 38,27 vs 288,75 ± 39,63 points, respectively). Exercised animals exhibited more cancellous bone than controls (292,00 ± 33,54 vs 251,54 ± 38,99 points, respectively) in this region and in the greater trochanter (281,50 ± 34,42 vs 237,23 ± 53,03 points; respectively). Bone mineral density and cortical bone in the femur midshaft were not altered either by OVX or ST. The maximum force and toughness of the femoral neck and midshaft were not affected either by OVX or ST. It was concluded that ST benefits cancellous bone mass in the femoral proximal region (i.e. femoral neck and greater trochanter), independently of ovariectomy, which did not reflect in improved mechanical properties either in the femoral neck or midshaft.

KEYWORDS: Physical exercise. Osteopenia. Bone fracture.

REFERÊNCIAS

- BAGI, C.M.; AMMANN, P.; RIZZOLI, R. E.; MILLER, S.C. Effect of estrogen deficiency on cancellous and cortical bone structure and strength of the femoral neck in rats. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 61, n. 4, p. 336-44, 1997.
- BERGMANN, P.; BODY, J. J.; BOONEN, S.; BOUTSEN, Y.; DEVOGELAER, J. P.; GOEMAERE, S.; KAUFMAN, J.; REGINSTER, J. Y.; ROZENBERG, S. Loading and Skeletal Development and Maintenance. **Journal of Osteoporosis**, New York, v. 2011, DOI:10.4061/2011/786752, 2011.
- BONNET, N.; BEAUPIED, H.; VICO, L.; DOLLEANS, E.; LAROCHE, N.; COURTEIX, D.; BENHAMOU, C.L. Combined effects of exercise and propranolol on bone tissue in ovariectomized rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 22, n. 4, p. 578-88, 2007.
- CHIEN, M. Y.; WU, Y. T.; HSU, A. T.; YANG, R. S.; LAI, J. S. Efficacy of a 24-week aerobic exercise program for osteopenic postmenopausal women. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 67, n. 6, p. 443-8, 2000.
- COHEN, A. J.; ROE, F. J. Review of risk factors for osteoporosis with particular reference to a possible aetiological role of dietary salt. **Food and Chemical Toxicology**, Andover, v. 38, n. 2, p. 237-53, 2000.
- D'AMELIO, P.; GRIMALDI, A.; DI BELLA, S.; BRIANZA, S. Z.; CRISTOFARO, M. A.; TAMONE, C.; GIRIBALDI, G.; ULLIERS, D.; PESCARMONA, G. P.; ISAIA, G. Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key mechanism in osteoporosis. **Bone**, Boston, v. 43, n. 1, p. 92-100, 2008.
- FONSECA, H.; MOREIRA-GONCALVES, D.; ESTEVES, J. L. S.; VIRIATO, N.; VAZ, M.; MOTA, M. P.; DUARTE, J. A. Voluntary Exercise has Long-Term In vivo protective effects on osteocyte viability and bone strength following ovariectomy. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 88, n. 6, p. 443-54, 2011.
- GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R.; SANTOS, J. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular & Integrative Physiology**, Vancouver, v. 130, n. 1, p. 21-7, 2001.
- GUADALUPE-GRAU, A.; FUENTES, T.; GUERRA, B.; CALBET, J.A. Exercise and bone mass in adults. **Sports Medicine**, Munich, v.39, n.6, p.439-68, 2009.
- HART, K. J.; SHAW, J. M.; VAJDA, E.; HEGSTED, M.; MILLER, S. C. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 91, n. 4, p. 1663-8, 2001.
- HONDA, A.; SOGO, N.; NAGASAWA, S.; SHIMIZU, T.; UMEMURA, Y. High-impact exercise strengthens bone in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as sham rats. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 95, n. 3, p. 1032-7, 2003.
- HUANG, T. H.; LIN, S. C.; CHANG, F. L.; HSIEH, S. S.; LIU, S. H.; YANG, R. S. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 95, n. 1, p. 300-7, 2003.
- HUANG, T. H.; HSIEH, S. S.; LIU, S. H.; CHANG, F. L.; LIN, S. C.; YANG, R. S. Swimming training increases the post-yield energy of bone in young male rats. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 86, n. 2, p. 142-53, 2010.
- HUGHES, V. A.; FRONTERA, W. R.; DALLAL, G. E.; LUTZ, K. J.; FISHER, E. C.; EVANS, W. J. Muscle strength and body composition: associations with bone density in older subjects. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianapolis, v. 27, n. 7, p. 967-74, 1995.

IWAMOTO, J.; YEH, J. K.; ALOIA, J. F. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. **Bone**, Bethesda, v. 24, n. 3, p. 163-9, 1999.

KARAGUZEL, G.; HOLICK, M. F. Diagnosis and treatment of osteopenia. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, New York, v. 11, n. 4, p. 237-251, 2010.

MELTON, S. A.; HEGSTED, M.; KEENAN, M. J.; MORRIS, G. S.; O'NEIL, C. E.; ZABLAH-PIMENTEL, E. M. Water exercise prevents femur density loss associated with ovariectomy in the retired breeder rat. **Journal of Strength and Conditioning Research**, Connecticut, v. 18, n. 3, p. 508-12, 2004.

OCARINO, N. M.; SILVA, J. F.; SANTIAGO, L.; ROCHA, C.; MARUBAYASHI, U.; SERAKIDES, R. Treadmill training before and/or after ovariectomy is more effective in preventing osteopenia in adult female rats. **Science & Sports**; Paris, v. 24, n. 1, p. 52-55, 2009.

OCARINO, N. M.; MARUBAYASHI, U.; CARDOSO, T. G. S.; GUIMARÃES, C. V.; SILVA, A. E.; TORRES, R. C. S.; SERAKIDES, R.. Physical activity in osteopenia treatment improved the mass of bones directly or indirectly submitted to mechanical impact. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, Athens, v. 7, n. 1, p. 84-93, 2007.

OCARINO, N. M.; BOELONI, J. N.; GOES, A. M.; SILVA, J. F.; MARUBAYASHI, U.; SERAKIDES, R. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from osteopenic rats subjected to physical activity with and without nitric oxide synthase inhibition. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**, Birmingham, v. 19, n. 4, p. 320-325, 2008.

PARK, J. H.; OMI, N.; NOSAKA, T.; KITAJIMA, A. E.; EZAWA, I. Estrogen deficiency and low-calcium diet increased bone loss and urinary calcium excretion but did not alter arterial stiffness in young female rats. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, Tokyo, v. 26, n. 3, p. 218-225, 2008.

RADOMINSKI, S. C.; PINTO-NETO, A. M.; MARINHO, R. M.; COSTA-PAIVA, L. H. S.; PEREIRA, P. A. S.; URBANETZ, A. A. et al. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 426-34, 2004.

SAENGSIRISUWAN, V.; PONGSEEDA, S.; PRASANNARONG, M.; VICHAIWONG, K.; TOSKULKAO, C. Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement. **Metabolism**, Boston, v. 58, n. 1, p. 38-47, 2009.

SHINODA, M.; LATOUR, M. G.; LAVOIE, J. M. Effects of physical training on body composition and organ weights in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, v. 26, n. 3, p. 335-43, 2002.

TROMP, A. M.; BRAVENBOER, N.; TANCK, E.; OOSTLANDER, A.; HOLZMANN, P. J.; KOSTENSE, P. J.; ROSS, J. C.; BURGER, E.H.; HUISKES, R.; LIPS, P. Additional weight bearing during exercise and estrogen in the rat: the effect on bone mass, turnover, and structure. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 79, n. 6, p. 404-15, 2006.

VON STENGEL, S.; KEMMLER, M.; ENGELKE, K.; KALENDER, W. A. Effects of whole body vibration on bone mineral density and falls: results of the randomized controlled ELVIS study with postmenopausal women. **Osteoporosis International**, Berlin, v. 22, n. 1, p. 317-25, 2011.

VAINIONPÄÄ, A.; KORPELAINEN, R.; SIEVÄNEN, H.; VIHRIÄLÄ, E.; LEPPÄLUOTO, J.; JÄMSÄ, T. Effect of impact exercise and its intensity on bone geometry at weight-bearing tibia and femur. **Bone**, Boston; v. 40, n. 3, p. 604-611, 2007.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 11, p. 1389-94, 2002.

VICENTINI, C. R.; ROSA, R. A. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; SANTOS, P. H.; LOUZADA, M. J. Q. Análise Biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 62-71, 2007.

WELCH, J. M.; TURNER, C. H.; DEVAREDDY, D.; ARJMANDI, B. H.; WEAVER, C. M. High impact exercise is more beneficial than dietary calcium for building bone strength in the growing rat skeleton. **Bone**, Boston, 2008; v. 42, n. 4, p. 660–668, 2008.