

ADELTON APARECIDO ANDRADE BARBOSA

**DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FÊMUR  
DE RATOS SUBMETIDOS À HIPOCINESIA DOS MEMBROS PÉLVICOS E A  
DIFERENTES PROGRAMAS DE REABILITAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2009

ADELTON APARECIDO ANDRADE BARBOSA

**DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FÊMUR  
DE RATOS SUBMETIDOS À HIPOCINESIA DOS MEMBROS PÉLVICOS E A  
DIFERENTES PROGRAMAS DE REABILITAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 15 de maio de 2009.

---

Prof. Antônio José Natali  
(coorientador)

---

Prof. Jorge Abdala Dergam dos Santos

---

Prof. Mário Jefferson Quirino  
Louzada

---

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta

---

Prof. Ricardo Junqueira Del Carlo  
(Presidente da Banca)

*Dedico este trabalho ao meu co-orientador Prof. Dr. Ricardo Junqueira Del Carlo pela presença e incentivo constante.*

*Sinceramente Agradecido!*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço a Deus, por permitir a conclusão deste trabalho e por me fazer capaz de realizar meus sonhos...*

*Aos meus pais, pelo acompanhamento constante e por terem sonhado comigo este momento.*

*Ao Prof. Dr. Marcelo José Vilela, pela oportunidade do Mestrado, pelos ensinamentos, pela compreensão e por promover meu crescimento pessoal.*

***Faço um agradecimento especial ao principal responsável pela minha formação, Prof. Dr. Ricardo Junqueira Del Carlo. Muito obrigado, pelos ensinamentos, orientações e, principalmente por não ter me desamparado em nenhum momento. Você é para mim, exemplo de dedicação, sabedoria, seriedade e profissionalismo. Toda minha admiração pelo seu caráter humano.***

*Prof. Dr. Antônio José Natali, que não colocou obstáculos para me ajudar e me acolheu tão bem em seu laboratório.*

*Prof. Dr. Sergio Luis Pinto da Matta, por ter-me feito acreditar que era possível e que eu podia. Obrigado por ter me resgatado.*

*Prof. Dr. Mario Jefferson Quirino Louzada, que mesmo sem me conhecer, abriu as portas de seu laboratório em Araçatuba – SP, e contribuiu de forma providencial para que esta pesquisa cumprisse com seus objetivos.*

*Ao amigo Dr. Flávio Pacheco pela disposição em colaborar sempre.*

*Meu sócio-irmão Dr. Abel Alves Marcelo, por ter sido compreensível em todos os momentos que subtraí de nossa Clínica e pela ajuda quando solicitado, valeu!*

*Dr. Frederico Franco pelo auxílio na execução da estatística.*

*Simone, pelo seu tempo dedicado na ajuda incessante em tornar este trabalho melhor.*

*As amigas Fernanda Granja Melo e Tatiana Arantes Lamas pela compreensão nos momentos em que precisei estar ausente.*

*Ana Flora, Bárbara, Betânia, Bruna Biffe, Judson, Lucas, Márcia, Mateus, Miguel, Natália, Regiane e Rose pela amizade e grande contribuição dada na realização deste trabalho.*

*A todos meus familiares que participaram direta ou indiretamente de todos os momentos e me apoiaram de maneira incondicional.*

*A todos que foram meus professores nas disciplinas que cursei durante a pós.*

*E tudo foi melhor depois que “você” chegou a minha vida. Ronylla, além das alegrias e felicidades que me dera, foi a todo tempo compreensível, presente e auxiliadora durante a fase experimental deste trabalho.*

*“Conheço muitos que não puderam quando deviam, porque não quiseram quando podiam”. (Rabelé)*

*A gente quer, deve e pode, por isso aqui estou!*

**MUITO OBRIGADO A TODOS!**

*“O grande segredo é saber quando e qual porta deve ser aberta. A vida não é rigorosa, ela propicia erros e acertos. Os erros podem ser transformados em acertos quando com eles se aprendem. Não existe a segurança do acerto eterno. A vida é generosa a cada sala que se vive, descobrindo assim, tantas outras portas. A vida enriquece quem se arrisca a abrir novas portas”.*

*Içami Tiba*

## ÍNDICE

	Pagina
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – Efeitos da imobilização no tecido ósseo.....	2
1.2 – Efeitos da suspensão.....	4
1.3 – Simulação em animais.....	4
1.4 – Efeitos da atividade física em algumas propriedades do osso após período de imobilização.....	5
1.5 – Densitometria óssea.....	6
1.6 – Ensaio mecânico.....	7
1.7 – Objetivos.....	8
2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1 – Animais.....	9
2.2 – Grupos experimentais.....	10
2.3 – Técnica de suspensão.....	10
2.4 – Treinamento.....	12
2.5 – Coleta do material.....	12
2.6 – Análise densitométrica.....	13
2.7 – Ensaio mecânico.....	14
2.8 – Análise estatística.....	16

3 – RESULTADOS .....	17
3.1 – Massa corporal.....	17
3.2 – Conteúdo mineral ósseo.....	18
3.3 – Área.....	19
3.4 – Densidade mineral óssea.....	19
3.5 – Ensaio mecânico.....	20
3.6 – Análise comparativa dos efeitos da suspensão.....	21
3.7 – Análise comparativa dos efeitos do tempo.....	22
3.8 – Análise comparativa dos efeitos do exercício.....	23
4 – DISCUSSÃO.....	25
4.1 – Análise densitométrica.....	27
4.2 – Ensaio mecânico.....	30
5 – CONCLUSÃO.....	33
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
ANEXOS.....	41

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Modelo de suspensão pela cauda.....	5
Figura 2 Densitômetro DPX-ALPHA.....	13
Figura 3 Foto ilustrativa da imagem da tela do computador onde se pode verificar o programa operacional para a análise de dados.....	14
Figura 4 Ensaio mecânico de flexão em três pontos, em fêmur de rato, corpo de prova.....	15
Figura 5 Desenho esquemático da curva característica, Força x Deslocamento, obtida no ensaio de flexão de três pontos na máquina universal de ensaios EMIC®.....	16
Figura 6 Valores médios do conteúdo mineral ósseo dos grupos obtidos após a análise densitométrica dos fêmures esquerdo dos ratos.....	18
Figura 7 Valores médios da área dos grupos obtidos após a análise densitométrica dos fêmures esquerdo dos ratos.....	19
Figura 8 Valores médios da densidade mineral dos grupos obtidos após a análise densitométrica dos fêmures esquerdo dos ratos.....	20
Figura 9 Valores médios da força máxima de fratura dos grupos obtidos após ensaio mecânico dos fêmures esquerdo dos ratos.....	20
Figura 10 Valores médios da rigidez dos grupos obtidos após ensaio mecânico dos fêmures esquerdo dos ratos.....	21

## LISTA DE TABELAS

	Página	
Tabela 1	Valores médios, desvio-padrão e estatístico para massa corporal no início e final do experimento para os oito grupos experimentais.....	18
Tabela 2	Comparação geral dos resultados estatísticos da densitometria óssea e ensaio mecânico entre os grupos suspensos sacrificados e não suspensos e sacrificados, suspensos liberados, não suspensos e liberados, com nível de significância de 5%.....	21
Tabela 3	Comparação geral dos resultados estatísticos da densitometria óssea e ensaio mecânico entre os grupos suspensos sacrificados e suspensos e liberados com nível de significância de 5%.....	22
Tabela 4	Comparação geral dos resultados da análise densitométrica e ensaio mecânico entre os grupos suspensos sacrificados, suspensos liberados, não suspensos e liberados, com nível de significância de 5%.....	23
Tabela 5	Comparação geral dos resultados estatísticos da densitometria óssea e ensaio mecânico entre os grupos suspensos treinados e suspensos liberados com nível de significância de 5%.....	23
Tabela 6	Comparação geral dos resultados estatísticos da densitometria óssea e ensaio mecânico entre os grupos suspensos sacrificados e suspensos e treinados com nível de significância de 5%.....	24

## RESUMO

BARBOSA, Adelson Aparecido Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2009. **Densidade mineral óssea e propriedades mecânicas de fêmur de ratos submetidos à hipocinesia dos membros pélvicos e a diferentes programas de reabilitação.** Orientador: Marcelo José Vilela. Coorientadores: Antonio José Natali e Ricardo Junqueira Del Carlo.

Durante a ausência de carga no esqueleto, e mesmo em curtos períodos de atividade física diminuída, pode ocorrer enfraquecimento ósseo. Assim, tratamentos médicos comuns para doenças músculo-esqueléticas que envolvam imobilização temporária por meio de talas, repouso forçado ou tração aumentam o risco de fraturas. A atividade física é a medida mais estudada, tanto para evitar danos quanto para promover recuperação da estrutura óssea. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar, por meio da densitometria óssea e do ensaio mecânico, a influência da hipocinesia e posterior atividade de corrida em esteira ou movimentação livre na caixa em fêmur de ratos. Foram utilizados sessenta e quatro ratos Wistar com sessenta e cinco dias de idade e massa corporal média de 316,11 gramas. Eles foram separados aleatoriamente em oito grupos, sendo três controles e cinco experimentais. Os animais do grupo 6 (G6), foram criados até completarem 93 dias de idade e serviram de controle para G1, composto por ratos suspensos pela cauda por 28 dias. No G7, os animais foram criados até 121 dias e foram controle para os grupos, G2 (suspenso e treinado em esteira por 4 semanas) e G4 (suspenso e liberado por 4 semanas). No G8, os animais foram criados até 149 dias e foram controle para os grupos, G3 (suspenso e treinado em esteira por 8 semanas) e G5 (suspenso e liberado por 8 semanas). Foram analisados o conteúdo e a densidade mineral óssea do fêmur esquerdo por meio de densitometria óssea. Foram analisadas as propriedades mecânicas do terço médio do fêmur (força máxima de ruptura e rigidez). A suspensão pela cauda provocou a diminuição na densidade mineral óssea, na força máxima admitida e na rigidez do fêmur dos animais. O treinamento em esteira e a atividade livre na caixa após a suspensão promoveram recuperação do

conteúdo mineral ósseo e da densidade mineral óssea e aumentou a rigidez óssea e a força necessária para produzir fratura de forma semelhante e ao longo do tempo.

## ABSTRACT

BARBOSA, Adelson Aparecido Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2009. **Bone mineral density and mechanical properties of femur of rats subjected to hypocinesia of pelvic members and different programs for rehabilitation.** Adviser: Marcelo José Vilela. Co-Advisers: Antonio José Natali and Ricardo Junqueira Del Carlo.

During the absence of load on the skeleton, and even short periods of reduced physical activity, may arise bone weakening. Thus, common medical treatments for diseases muscle-esqueléticas involving immobilization through temporary splints, traction or rest forced the risk of fractures increase. Physical activity is studied, both to prevent damage and to promote recovery of bone structure. Therefore, the objective of this research was evaluated by bone densitometry and mechanical testing, the influence of hypocinesia and subsequent activity on a treadmill or free movement in femurs of rats. Sixty-four Wistar rats were used. The animals were created until the age of sixty-five days for the beginning of the procedures experimental. They were divided into eight groups, being three control and five experimental. The animals in group 6 (G6), were created until completeting 93 days of age and served as a control for G1, which was to suspend the animal by the tail for 28 days. In G7, the animals were created until 121 days and were for the control groups, G2 (suspended and trained on a treadmill for 4 weeks) and G4 (suspended and released for 4 weeks. Already in the G8, the animals were created until 149 days and were for the control groups, G3 (suspended and trained on a treadmill for 8 weeks) and G5 (suspended and released for 8 weeks). We analyzed the content and bone mineral density of the left femur by bone densitometry. Another analysis related to mechanical properties of the middle third of the femur (maximum force necessary to break and stiffness). The suspension by the tail caused a decrease in bone mineral density, maximum strength and rigidity of the femur of animals. The training on a treadmill and free activity after suspension promoted the

recovery of bone mineral content, density, increased bone stiffness and strength required to produce fracture in a similar way and over time.

## 1. INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é o principal constituinte do esqueleto, serve de suporte para as partes moles e protegem órgãos vitais, como os contidos na caixa craniana, torácica e canal raquidiano. Proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis, e constitui um sistema de alavanca que amplia as forças geradas pela contração muscular. Além dessas funções os ossos funcionam como depósito de cálcio, fosfato e outros íons armazenando-os ou liberando-os de maneira controlada para manter constante a concentração desses importantes constituintes nos líquidos corporais (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O osso é formado por tecido cortical (compacto) e esponjoso (trabecular). Esses dois tipos de ossos são formados pelos mesmos tipos de células e de substância intercelular, mas diferem entre si quanto à disposição espacial do trabeculado e à proporção entre espaços medulares e substância óssea (HOU et al., 1990).

O osso cortical é uma massa contínua, e comparado ao trabecular, pode ser considerado compacto. A unidade estrutural básica deste osso é denominada sistema haversiano ou ósteon, que consiste de lâminas concêntricas distribuídas ao redor do canal de Havers, sendo o mesmo formado por grande número destes sistemas (TUREK, 1991).

O osso trabecular é constituído por trabéculas entrecruzadas de diversas formas e espessuras, os espaços entre elas são repletos de medula óssea. A

maioria das trabéculas são interligadas e distribuídas ao longo das linhas de tensões mecânicas (TUREK, 1991).

O osso compacto denso e a malha trabecular do osso esponjoso são tecidos capazes de resistir à tração, compressão e a forças de cisalhamento normalmente ao mesmo tempo. Segundo a lei de Wolff, o osso é um tecido dinâmico capaz de se modelar de acordo com as pressões impostas a ele. O apoio de carga ou peso e a contração muscular são duas forças que desempenham papel importante na modelagem do osso. O exercício ativo pode aumentar ou diminuir o peso, o comprimento e a densidade óssea, dependendo da idade da pessoa e da intensidade do exercício (CORNWALL, 1984).

A falta de exercício decorrente do desuso, imobilidade e fraqueza ou lesão neuromuscular também afeta o osso. A reabsorção óssea em oposição a uma diminuição na formação óssea pode ser responsável pela perda da densidade constatada pelo desuso (CORNWALL, 1984).

### **1.1 Efeitos da imobilização no tecido ósseo**

As fraturas ósseas, rupturas ligamentares, lesões musculares, como também doenças degenerativas ou articulares, podem exigir, após cirurgia ou tratamento conservador, a imobilização dos membros (APPELL, 1986).

A imobilização permite a reabsorção óssea e deprime a formação óssea (especialmente no osso trabecular), resultando em osteoporose, isto é, a massa óssea diminui, em relação ao seu volume, com alteração simultânea no material e propriedades geométricas do osso. Estima-se que aproximadamente 30% do total de perda óssea, induzida pela imobilização experimental em ratos, sejam causadas pelo aumento da reabsorção óssea e, aproximadamente 70% pela diminuição da formação óssea (MINAIRE, 1989).

Devido aos rápidos efeitos da ausência de carga no esqueleto, mesmo por curtos períodos de atividade física diminuída, pode ocorrer enfraquecimento ósseo. Desta forma, segundo MAEDA et al (1993), tratamentos médicos comuns para doenças músculo-esqueléticas (fraturas, lesões ligamentares, hérnias de disco, recuperação pós-cirúrgica, etc.), que envolvem imobilização temporária por meio de talas, repouso forçado ou tração, representam risco de iatrogenia e de causa de fratura.

Efeitos negativos no equilíbrio do cálcio ocorrem durante desuso por imobilização (WESTLIN, 1974), na remoção de forças mecânicas em humanos com repouso no leito (WIEL et al., 1991; SILVA, 2002) e em vôos espaciais (WRONSKI & MOREY, 1983). A diminuição das forças mecânicas causa redução mensal de 3 - 6% na massa dos ossos envolvidos (DONALDSON et al., 1970; CANN et al., 1980; RUBIN, 1985; MINAIRE et al., 1974).

No início da imobilização, a diminuição da solicitação mecânica resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea, temporariamente, sem oposição da deposição. Nos humanos, a perda óssea atinge o limite máximo durante as primeiras 6 semanas e, então, é seguida por uma taxa de menor perda. O estado de equilíbrio é alcançado quando a formação óssea neutraliza a reabsorção, mais provavelmente após 5-6 meses (KANNUS et al., 1994).

MAEDA (1993), após imobilizar por seis semanas a pata traseira de ratos, pelo método de enfaixamento com bandagem elástica, mantendo quadril em flexão, joelho e tornozelo em extensão, observou que a perda de osso esponjoso foi significativa e caracterizada por diminuição do número de trabéculas.

KANNUS et al. (1994), avaliaram os efeitos da imobilização, da mobilização livre, e dos exercícios com corrida de baixa e alta intensidade em ratos, imobilizando a pata traseira de cada animal até acima do joelho. O joelho foi fixado em 100% flexão e o tornozelo em 6 graus de flexão plantar, de modo que os músculos da panturrilha estivessem relaxados. Após três semanas, o conteúdo mineral do osso foi estudado por meio de um "scanner" para absorção de energia dupla de raios-X e ficou comprovado que o modelo de imobilização foi efetivo na produção de osteopenia.

KANEPS (1997), em trabalho com cães, mediu o comportamento mecânico do osso cortical e esponjoso, após 16 semanas de imobilização unilateral do membro anterior. Os úmeros foram testados com ensaio de flexão em 3 pontos até a ruptura. Constatou que a densidade mineral óssea, a carga máxima, a carga proporcional e a rigidez do osso cortical, bem como a tensão de ruptura, a tensão proporcional e o módulo de elasticidade foram significativamente menores nos membros imobilizados.

## **1.2 Efeitos da suspensão**

Segundo CARVALHO (2001), do começo ao fim da vida, o sistema esquelético ajusta-se para manter a integridade estrutural dos ossos que, no cotidiano, está sujeita a várias condições de carregamento mecânico.

Estudos dos efeitos do sub-carregamento do peso sobre o metabolismo do cálcio mostraram que o aumento na excreção urinária desse íon, não é devido à inatividade em si, mas sim a ausência de compressão longitudinal sobre os ossos longos. Se a excreção urinária de cálcio puder ser entendida como uma indicação de desmineralização óssea, parece que a força gravitacional sobre os ossos longos é essencial para o trofismo ósseo (ASTRAND et al., 1980).

## **1.3 Simulação em animais**

O sub-carregamento do peso também é observado em pessoas que permanecem de repouso por tempo prolongado no leito. Estudos têm demonstrado que esta condição reproduz sobre a estrutura óssea, efeitos semelhantes aos observados em vôos espaciais (PORTINHO et al., 2008).

Segundo NORMAN et al. (2000), ratos são aceitos como modelos para estudos, respeitando-se diferenças entre o comportamento dos tecidos dos ratos e do tecido dos humanos (por exemplo, a taxa de remodelação), o que impõe certas limitações na extrapolação dos resultados.

Os estudos onde os animais são mantidos em suspensão (Figura 1) têm sido utilizados para simular as condições que acontecem em vôos espaciais ou outras condições que levam a restrição da atividade física. Embora o método produza condições diferentes da imobilização (os animais podem realizar contrações dinâmicas, porém com carga mínima), as alterações podem ser observadas nos músculos e nos ossos de acordo com o tempo de exposição a essas situações (MATSUMOTO et al., 1998).

A hipocinesia dos membros pélvicos de ratos provoca danos significativos na densidade mineral óssea e o retorno as atividades com treinamento recupera a arquitetura do fêmur (SHIMANO, 2006).

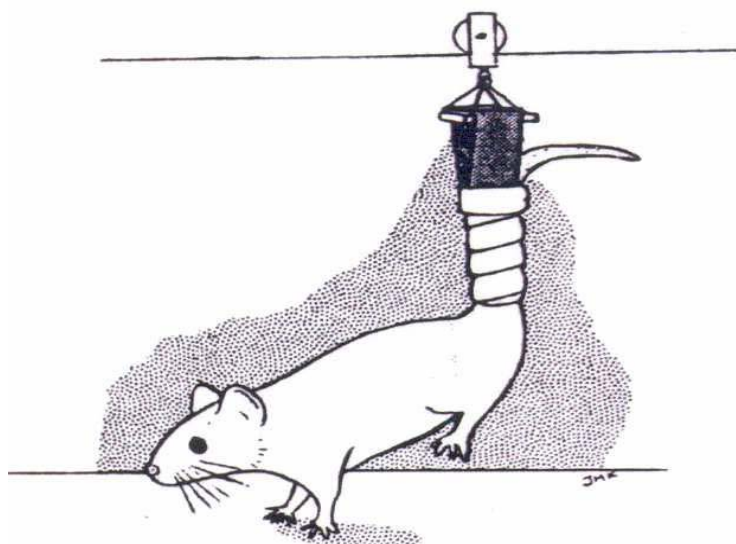


Figura 1 - Modelo de suspensão pela cauda. Adaptado de SHIMANO, 2006.

#### **1.4 Efeitos da atividade física em algumas propriedades do osso após período de imobilização**

Segundo HOU et al. (1990), os efeitos dos exercícios sobre o sistema esquelético dependem de fatores como a intensidade do exercício, a maturidade esquelética, o tipo de osso (cortical e trabecular) e a localização anatômica (diáfise, metáfise ou epífise).

O treinamento físico é a contramedida mais estudada como forma de tratamento e prevenção da perda óssea e atrofia muscular. Estudos em animais com treinamentos em esteiras demonstraram que houve aumento da massa óssea e da densidade mineral óssea (YEH et al., 1993; TUUKKANEN; PENG; VAANANEN, 1994; VAN DER WIEL et al., 1995; MATHEY et al., 2002).

YEH et al. (1993) determinaram a densidade mineral óssea (DMO) e o conteúdo mineral ósseo (CMO), em ratos adultos e exercitados em esteira por nove e dezesseis semanas, em protocolo de treinamento considerado moderado. Em animais adultos, o treinamento por um período maior causou melhores efeitos sobre a estrutura óssea.

NORMAN et al., (2000) concluíram que o treinamento com exercício aeróbico moderado atenuou a perda de massa óssea e a atrofia muscular em animais que passaram por um período de suspensão pela cauda.

SHIMANO (2006) realizou um experimento que consistiu em suspender ratos de dois grupos pela cauda, durante 28 dias, sendo que um grupo foi suspenso e treinado (S-T), e o outro suspenso e liberado (S-L). A suspensão pela cauda provocou diminuição das propriedades mecânicas do terço proximal do fêmur. A liberação, após a suspensão, causou alterações no núcleo de ossificação, na esfericidade da cabeça e na placa de crescimento do terço proximal do fêmur, sem alterar as propriedades mecânicas desta região. O treinamento conservou o núcleo de ossificação e a esfericidade da cabeça após a suspensão e também não alterou o comportamento mecânico. Concluiu que a liberação promoveu a recuperação parcial do comportamento mecânico da diáfise do fêmur e, o treinamento recuperou as propriedades e estimulou a formação de osso novo.

### **1.5 Densitometria óssea.**

A densitometria radiográfica (DR) fornece meio para mensurar e determinar a relação existente entre a quantidade de luz recebida por uma película sensível e seu correspondente enegrecimento, direto ou por um revelador. Ela vem sendo utilizada para avaliar a densidade óssea e é referida como recurso útil no diagnóstico e orientação terapêutica com vistas ao tratamento de doenças osteometabólicas, estudo de reparações ósseas de fraturas e procedimentos cirúrgicos (LOUZADA et al.; 2001).

FABRETTI (2008) avaliou a densidade mineral óssea dos fêmures de ratas submetidas a stress térmico. Ratas Wistar adultas com massa corporal entre 250-300g foram mantidas em caixas individuais à temperatura ( $24 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), luz (12h claro/12h escuro; luzes acesas às 6h) e exaustão (10 trocas do volume do ar da sala/ hora) controladas, com água e ração *ad libitum*. Foram distribuídas em dois grupos: C (controle, n=10), E (experimental, n=10), submetidas a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas/dia por oito semanas. Sacrificadas, os fêmures foram removidos e refrigerados. Foi feita análise densitométrica utilizando-se a técnica de absorção de raios-x de duas energias (DEXA®). Concluiu que a submissão de ratas a estresse térmico ( $4^{\circ}\text{C}$ ) durante 3h/dia, por oito semanas, proporcionou diminuição nos parâmetros analisados, prejudicando a qualidade do tecido ósseo.

## 1.6 Ensaio mecânico

O conhecimento das características de resistência de alguns materiais é importante na Medicina Ortopédica e Esportiva. Materiais biológicos tais como osso, músculo, tendões e cartilagem, muitas vezes, necessitam de otimização de sua resistência para evitar ruptura (GOULD, 1993).

A determinação das propriedades mecânicas de um material é realizado por meio de ensaios que podem ser destrutivos, quando promovem a ruptura e/ou a inutilização do material, ou não destrutivo. Na primeira categoria estão classificados os ensaios de tração, impacto, dobramento, flexão, torção, fadiga, compressão e outros. Dentre os ensaios não destrutivos podem ser destacados os que utilizam raios-X, ultra-som, além de outros (SOUZA, 1974).

A escolha do ensaio mecânico mais adequado depende da finalidade do material, dos tipos de força que ele sofrerá e das propriedades mecânicas que se deseja medir (SOUZA, 1974).

Do ponto de vista mecânico, o osso pode ser estudado como material (tecido ósseo – corpo de prova) ou como estrutura intacta, sendo que os ensaios têm finalidades distintas (EVANS et al., 1969).

Quando há interesse no conhecimento das propriedades do material, amostras são retiradas do osso e ensaiadas. Assim, é possível caracterizar o tecido ósseo pela curva tensão-deformação. Dependendo do ensaio, podem-se determinar propriedades como o módulo de elasticidade, módulo de cisalhamento, limite de resistência e limite de ruptura. Estes parâmetros são importantes, pois ajudam a caracterizar um elemento biológico que tem grande importância na absorção, transmissão e resistência aos esforços físicos (CARVALHO, 2001).

VICENTINI (2006) avaliou a influência da suspensão, do treinamento físico e da movimentação livre, por meio de análises biomecânicas em terço médio de fêmures de ratos. Foram utilizados 75 ratos machos, distribuídos em cinco grupos experimentais. Destes, dois utilizados como controle CI (21 dias) e CII (42 dias) e três suspensos por 21 dias. Dos suspensos, um grupo foi sacrificado logo após o término do período de suspensão (S), outro foi submetido a período de atividade física em esteira por 21 dias (SE), e o terceiro à movimentação livre por 21 dias (SL). A análise biomecânica não expressou

diferenças significativas nos grupos SE e SL em nenhum dos parâmetros analisados (Força Máxima, Rigidez e Resiliência), já o grupo S, apresentou redução significativa em todas as propriedades mecânicas estudadas.

## **1.7 Objetivos:**

### **1.7.1 Objetivo Geral**

Avaliar parâmetros densitométricos e mecânicos em fêmur de ratos submetidos a hipocinesia dos membros pélvicos e, posterior liberação ou reabilitação em esteira.

### **1.7.2 Objetivos Específicos:**

1- Analisar a densidade mineral óssea do fêmur de ratos logo após um período de submissão à hipocinesia dos membros pélvicos e após diferentes períodos de reabilitação com corrida em esteira.

2- Analisar o conteúdo mineral ósseo do fêmur de ratos logo após um período de submissão à hipocinesia dos membros pélvicos e após diferentes períodos de reabilitação com corrida em esteira.

3- Analisar a força máxima admitida no terço médio do fêmur e a rigidez, após um período de submissão à hipocinesia dos membros pélvicos e após realização de diferentes períodos de reabilitação com corrida em esteira.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada no presente estudo foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), segundo o parecer nº 16/2009, (Anexo2), de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Durante toda a fase experimental os animais foram acompanhados, diariamente, pela médica veterinária Ana Flora Sousa de Brito, CRMV-RN 610.

### 2.1 Animais

Ratas matrizes da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) em fase inicial de gestação foram selecionadas no Biotério da Universidade Federal de Viçosa e, após a parturição foram selecionados filhotes machos. O controle da idade foi realizado a partir do nascimento e o desmame foi realizado 21 dias após a parturição.

Os filhotes permaneceram com a mãe em gaiolas individuais até a idade do desmame. Após o período de amamentação os animais foram distribuídos em oito gaiolas e levados para o Biotério de Experimentação do Departamento de Educação Física da UFV, onde tiveram livre acesso à água e alimentação, sendo as gaiolas higienizadas de acordo com os procedimentos do laboratório.

Foram utilizados 64 ratos, com idade de 65 dias. Previamente à suspensão pela cauda e ao final do experimento todos os animais foram pesados, identificados e numerados.

Inicialmente, foram utilizados 64 ratos. Quatro animais morreram durante o período de suspensão e hipocinesia, e três foram excluídos por não se adaptarem ao protocolo de treinamento, desta forma o experimento foi conduzido com 57 animais.

## **2.2 Grupos Experimentais:**

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos experimentais:

Grupo 1, controle suspenso, constituído de 7 animais que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias e posteriormente sofreram eutanásia;

Grupos 2 e 3 Suspensos Treinados. Compostos por 7 e 5 animais respectivamente, que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias, e posterior regime de exercício em esteira por mais 28 dias (grupo 2) e 56 dias (grupo 3) e posteriormente sofreram eutanásia;

Grupos 4 e 5 Suspensos Liberados, compostos por 7 animais que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias e, posteriormente, alojados com livre movimentação na caixa por 28 dias (grupo 4) e 56 dias (grupo 5) e depois sofreram eutanásia;

Grupos 6, 7 e 8, Controles Negativos, compostos por 8 animais, alojados com movimentação livre na caixa, submetidos a eutanásia com 93 dias de idade (65+28), 121 dias de idade (65+28+28) e 149 dias de idade (65+28+56), respectivamente.

## **2.3 Técnica de Suspensão:**

Os animais dos grupos 1 a 5 foram suspensos pela cauda, e todos os procedimentos para suspensão do animal foi baseado no trabalho de SILVA E VOLPON (2004), com pequenas modificações, como relatado a seguir:

### **2.3.1 Preparo do animal:**

Os ratos foram anestesiados com a associação de cetamina (95mg/kg) e xilazina (12mg/kg), aplicada por via intraperitoneal. Em seguida a cauda foi lavada com água e detergente e, após secagem completa, foi aplicada tintura de benjoim em toda pele.

Em seguida, a cauda foi envolvida com espuma adesiva (ortobom), desde sua origem até os dois terços proximais, aproximadamente, com o objetivo de proteger a pele e evitar lesões cutâneas. Sobre esta espuma foi colocada uma bandagem elástica, tensionando-se homoganeamente, de modo a envolver toda espuma. Sobre o envoltório da tira elástica foi colocado um cadarço sarjado de modo a formar uma alça que serviu para prender o animal ao sistema de suspensão, por meio de uma presilha.

A seguir a extremidade da cauda do animal não enfaixada foi amputada, para evitar necrose.

### **2.3.2 Sistema de Suspensão:**

O sistema de suspensão foi adaptado em duas estantes com 3 prateleiras cada, nas dimensões de 1m de largura por 1,60m de altura, 50 cm de profundidade e 42 cm de altura entre prateleiras.

Na parte superior de cada prateleira foi passado um fio de alumínio galvanizado com comprimento de 1,20m e 4,5mm de diâmetro, fixado nas laterais da estante. Este fio foi utilizado para fixação das presilhas e suspensão do animal. Na base da prateleira, anteriormente e posteriormente, foi fixado um tubo de PVC 75mm, medindo 90cm de comprimento, com 4 furos de 5cm de diâmetro, eqüidistantes 15cm, para acesso do animal a água.

Em cada prateleira foram suspensos 8 animais, sendo 4 na parte anterior e 4 na posterior, e chapas de alumínio presas por porcas nos fios galvanizados, delimitavam o espaço de movimentação dos animais. A alça presa a cauda do animal foi fixada na presilha do sistema de suspensão e a altura foi regulada até que os membros pélvicos estivessem totalmente suspensos. A estrutura da estante permitiu aos animais movimentação com os membros torácicos com

apoio no assoalho da prateleira, porém, mantendo os membros pélvicos suspensos (FIGURA 1).

Os animais somente foram suspensos após o retorno anestésico.

No assoalho da prateleira foram colocados ração e maravalha, e a higienização foi feita sempre que necessário. Neste sistema os animais tiveram livre acesso à água e ração.

#### **2.4 Treinamento:**

Os animais dos grupos 6, 7 e 8 permaneceram em caixas de polipropileno, próprias para ratos, nas dimensões de 49 x 34 x 16cm, sem atividade física programada, apenas com movimentos normais de deambulação.

Os animais dos grupos 2 e 3 foram treinados para caminhar em uma esteira motorizada (Insight, modelo EP-131), composta por 6 baias individuais, com altura de 15cm, largura interna de 10cm e comprimento de 50cm.

Para o treinamento físico foi utilizado o protocolo proposto por (VERAS-SILVA et al, 1997) com pequenas alterações. O período de treinamento foi iniciado no dia seguinte à retirada da suspensão. Os animais correram 10 minutos por dia, aos quais foram acrescentados 5 minutos a cada dia até 60 minutos de treinamento diário na velocidade de 10 m/min. Este aumento progressivo no tempo de treinamento permitiu a adaptação do animal ao exercício. A velocidade da esteira a partir da terceira semana foi de 14m/min, na posição horizontal sem inclinação, caracterizando exercício de baixa intensidade. O grupo 2 foi submetido a este protocolo durante 28 dias e o grupo 3 por 56 dias. A cada semana os ratos foram treinados por 5 dias consecutivos (segunda a sexta-feira) e tiveram dois dias de repouso (sábado e domingo).

#### **2.5 Coleta do Material:**

Após o período de experimento, os animais tiveram as massas corpóreas aferidas, utilizando balança eletrônica (Helmac®, modelo HM 1000, 0,01g). Logo após os animais foram submetidos à eutanásia em câmara de CO<sub>2</sub>. Os fêmures esquerdos foram retirados, limpos das partes moles, pesados e identificados e,

envolvidos em gaze umedecida em solução fisiológica e conservados em *freezer* a  $-20^{\circ}\text{C}$ . As carcaças foram incineradas.

Para análise densitométrica e ensaio mecânico, os ossos foram retirados do *freezer* e mantidos em refrigerador comum por 24 horas. Em seguida, permaneceram em temperatura ambiente, até atingir equilíbrio térmico, quando foram analisados.

## 2.6 Análise Densitométrica:

A densidade mineral óssea (DMO), em  $\text{g}/\text{cm}^2$ , dada pelo conteúdo mineral ósseo (CMO), em g, pela área, em  $\text{cm}^2$ , foi mensurada em todos os fêmures esquerdos dos animais, utilizando densitômetro modelo DPX-ALPHA (Figura 2), com software especial para pequenos animais (Figura 3), pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/UNESP, Araçatuba, SP.

Cálculo da Densidade Mineral óssea:  $\text{DMO} = \text{CMO} / \text{ÁREA}$



Figura 2. Densitômetro LUNAR- DPX-ALPHA utilizado para mensuração da densidade mineral óssea do fêmur dos ratos após hipocinesia, treinamento e mantidos sem tratamento experimental.



Figura 3. Foto ilustrativa da imagem da tela do computador evidenciando o programa operacional para a análise de dados de área, conteúdo mineral e densidade mineral ósseas.

## 2.7 Ensaio Mecânico:

Após análise densitométrica, todos os fêmures esquerdos, foram submetidos a ensaios mecânicos em máquina universal de ensaio EMIC®, modelo DL 3000\*, do Departamento de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia da Unesp, Araçatuba, SP, com carga aplicada a uma velocidade de 5mm/min. O registro de força e deslocamento foi realizado pelo sistema computacional pertencente à máquina. Sendo assim, foi possível controlar todos os parâmetros dos ensaios e obter o valor da força referente a cada deslocamento. A aquisição destes pontos foi realizada em intervalos não padronizados de tempos definidos pelo programa, e permitiu definir a força necessária para ruptura da amostra.

Foram utilizados ensaios de flexão simples em três pontos que permitiram testar o corpo de prova. O ensaio consistiu em apoiar o corpo de prova sob dois suportes distanciados entre si a uma distância L, sendo a carga de dobramento ou flexão aplicada no centro do corpo de prova (a uma distancia L/2 de cada apoio, Figura 4). A distância de vão de apoio foi de 20 mm e a célula de carga utilizada foi de 2000N. A cada incremento de carga aplicada ao material foi anotada a deflexão correspondente, para depois, ser construído o gráfico carga x deflexão, a partir do qual pode-se obter: força máxima e rigidez, sendo: força

máxima ( $F_{\text{máx}}$ ) o maior valor de força observada no ensaio mecânico e rigidez deformação observada no corpo, em resposta à força aplicada. Quanto maior a rigidez menor a deformação resultante da aplicação de uma tensão. Foi obtida através da inclinação da curva força versus deformação na fase elástica da curva (Figura 5).

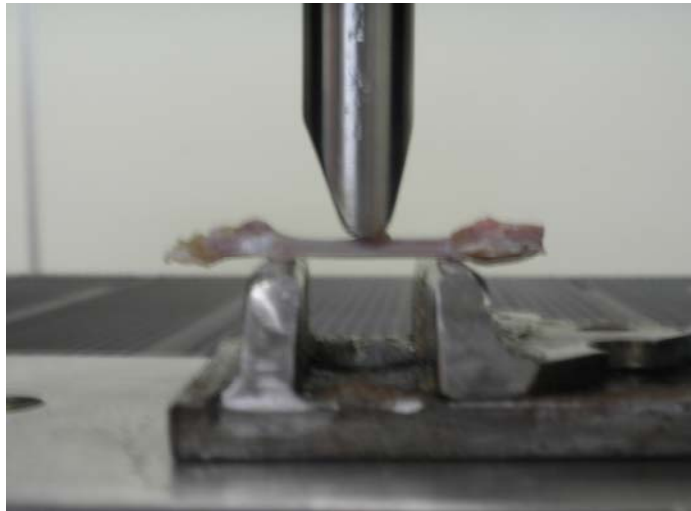


Figura 4. Ensaio mecânico de flexão em três pontos, em fêmur de rato, corpo de prova.

O programa de computador da máquina emitiu um arquivo de extensão .txt para cada ensaio. Este arquivo continha todos os pontos adquiridos durante os ensaios [tempo (s) x deslocamento (mm) x força (N)]. Com estes pontos e o programa de computador Excel<sup>®</sup> foi possível construir os gráficos e calcular as propriedades mecânicas.

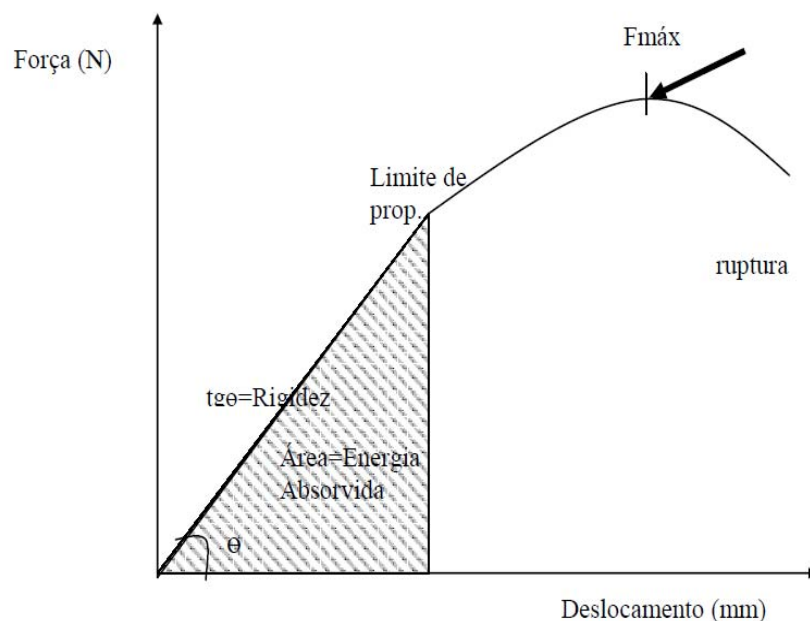


Figura 5. Desenho esquemático da curva característica, Força x Deslocamento, obtida no ensaio de flexão de três pontos na máquina universal de ensaios EMIC®.

## 2.8 Análise Estatística

Após submeter os dados ao teste de normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov), aplicou-se análise de variância (ANOVA one-way para análises do fator tempo e tempo de exercício e seu controle), teste t student para análises entre 2 grupos independentes (fatores suspensão e exercício) e testes de correlação de Pearson para determinar a relação entre variáveis. Para as análises de múltiplas comparações *post hoc* foi utilizado o teste de Tukey em análises paramétricas e Dunn's em análises não-paramétricas. Os cálculos estatísticos foram realizados no software Sigma Stat 3.0 [SPSS], empregando o nível de significância estatística de  $P < 0,05$ .

### **3. RESULTADOS**

Para os resultados finais foram considerados todos os animais que não apresentaram problemas durante os procedimentos experimentais. Destes, a ruptura da cauda durante a suspensão foi observada em um animal de cada um dos grupos 1, 2, 4 e 5, e três animais do grupo 3 não conseguiram se adaptar ao protocolo de treinamento.

#### **3.1 Massa Corporal**

Analisando os valores dos pesos dos animais observou-se que não houve diferença ( $p=0,546$ ) entre os grupos no início do experimento. Os dados com os valores médios do peso corporal no início e final do experimento estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios, desvio-padrão e estatístico para massa corporal no início e no final do experimento para os oito grupos experimentais.

Grupos	Massa Corporal Inicial (g)			Massa Corporal Final (g)		
	M	±	DP	M	±	DP
1	327,0	±	30,6	295,8	±	24,3 *
2	318,9	±	23,8	362,7	±	29,9 # €
3	315,2	±	29,1	432,6	±	44,4 #
4	323,4	±	12,5	391,8	±	21,2 #
5	313,7	±	25,5	414,1	±	50,0 #
6	317,8	±	27,9	373,0	±	26,7
7	313,9	±	31,8	423,6	±	33,0 €
8	299,0	±	37,5	472,7	±	39,9

P<0,05 (Teste Tukey); # vs G1; \* vs G6; € vs G4

### 3.2 Conteúdo Mineral Ósseo

Os resultados para conteúdo mineral ósseo do fêmur esquerdo dos ratos obtidos por meio da análise densitométrica, estão representados na figura 6.

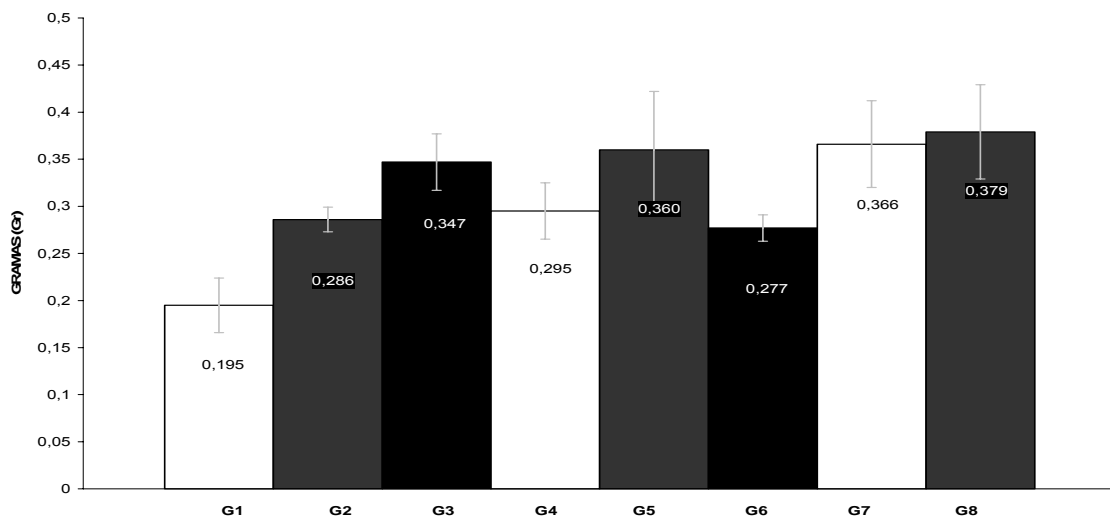


Figura 6. Conteúdo mineral ósseo do fêmur esquerdo dos ratos dos diversos grupos experimentais obtido após a análise densitométrica, ao final do experimento.

### 3.3 Área

Os valores médios para área mensurada no fêmur esquerdo dos ratos, dos diversos grupos, por meio da análise densitométrica estão representados na Figura 7.

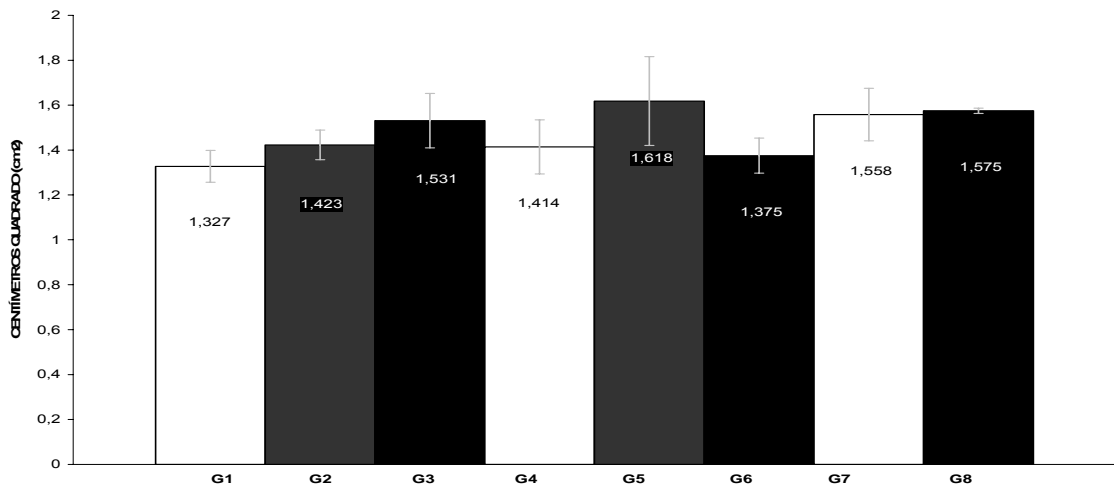


Figura 7. Área do fêmur dos ratos dos diversos grupos obtida na análise densitométrica ao final do experimento.

### 3.4 Densidade Mineral Óssea

Os resultados para densidade mineral óssea (CMO/AREA) do fêmur esquerdo dos ratos estão representados na Figura 8.

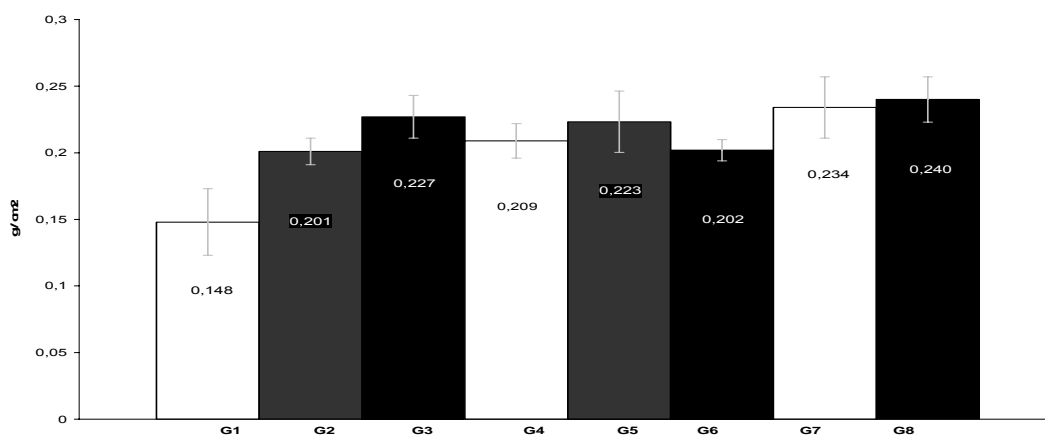


Figura 8. Densidade mineral óssea do fêmur esquerdo dos animais dos diversos grupos experimentais.

### 3.5 Ensaio Mecânico

Os resultados do ensaio mecânico para análise da força máxima admitida no terço médio do fêmur esquerdo dos ratos, por meio de ensaios de flexão simples em três pontos, estão representados na figura 9.

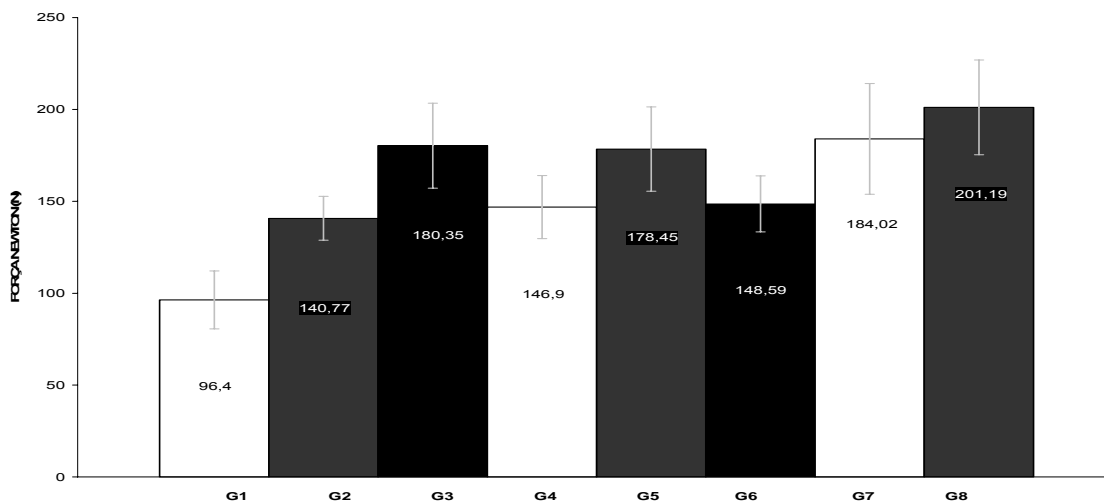


Figura 9. Força máxima admitida obtida após ensaio mecânico do fêmur esquerdo dos animais dos diversos grupos experimentais.

Os resultados do ensaio mecânico para análise da rigidez dos fêmures esquerdo dos ratos estão representados na Figura 10.

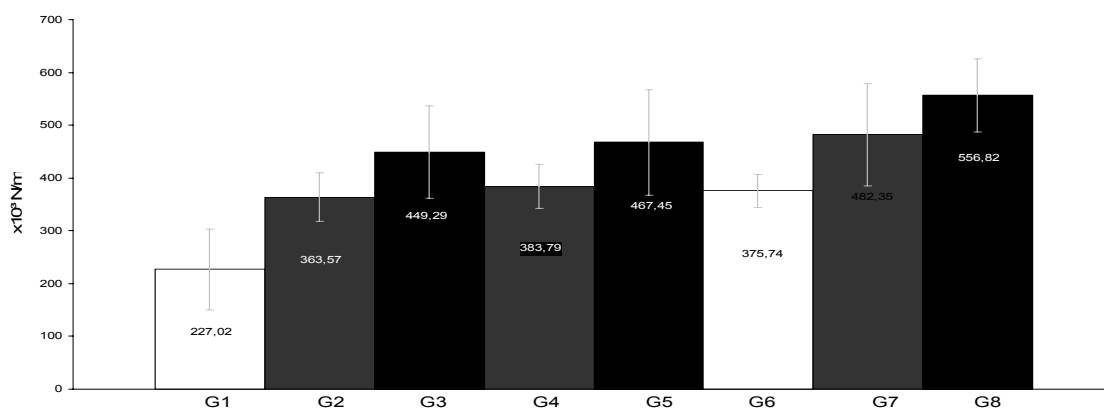


Figura 10. Rigidez do fêmur esquerdo dos ratos, dos diversos grupos experimentais.

### 3.6 Análise Comparativa dos Efeitos da Suspensão

Os resultados das comparações entre os grupos (1 x 6, 4 x 7 e 5 x 8) para densidade mineral óssea, força máxima e rigidez estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Comparação da densitometria óssea, força máxima e rigidez entre os grupos suspensos sacrificados (G1) e não suspensos e sacrificados (G6), suspensos liberados (G4 e G5), não suspensos e liberados (G7 e G8).

GRUPOS COMPARATIVOS	DMO	FORÇA MÁXIMA	RIGIDEZ
G1 x G6	p = 0,009	p < 0,001	p < 0,001
G4 x G7	p = 0,014	p = 0,008	p = 0,027
G5 x G8	p = 0,181	p = 0,219	p = 0,062

Teste: (t-student – G4 x G7, G5 x G8); (Mann-Whitney – G1 x G6)

A comparação entre os grupos G1 x G6 e G4 x G7 mostrou diferença significativa, a favor de G6 e G7, grupos não suspensos, para todas as variáveis avaliadas. Entre os grupos G5 x G8, não houve diferença estatística para nenhuma das variáveis.

### 3.7 Análise Comparativa dos Efeitos do Tempo e do Exercício ao Longo do Tempo.

Os resultados das comparações entre os grupos suspensos e liberados (1 x 4 x 5) e não suspensos (6 x 7 x 8) para densidade mineral óssea, força máxima e rigidez estão apresentados no Tabela 3.

Tabela 3. Comparação da densitometria óssea, força máxima e rigidez entre os grupos suspensos sacrificados (G1) e suspensos e liberados (G4, G5).

<b>GRUPOS COMPARATIVOS</b>	<b>DMO</b>	<b>FORÇA MÁXIMA</b>	<b>RIGIDEZ</b>
G4 x G1	p = 0,001	p = 0,178	p = 0,073
G5 x G1	p = 0,001	p = 0,004	p = 0,027
G5 x G4	p = 0,473	p = 0,239	p = 0,130

Teste: (post hoc de Tukey)

Foram evidenciadas diferenças para G5 x G1 e G4 x G1 para densidade mineral óssea. E na comparação entre os grupos G5 x G4 não houve diferença. Na comparação da força máxima e rigidez, a análise mostrou diferenças ( $p < 0,001$ ) para G5 x G1. E, não houve diferença entre os grupos G5 x G4 e G4 x G1.

Para a análise dos grupos G6 x G7 x G8 (TABELA 4), houve diferença para densidade mineral óssea para G8 x G6 e G7 x G6. Mas, não houve diferença entre os grupos G8 x G7. Na comparação para força máxima e rigidez a análise mostrou diferença ( $p < 0,05$ ) para G8 x G6 e G7 x G6. Porém entre os grupos G8 x G7 não houve diferença.

Tabela 4. Comparação da densitometria óssea, força máxima e rigidez ensaio mecânico entre os grupos não suspensos sacrificados (G6) e não suspensos e liberados (G7, G8).

<b>GRUPOS COMPARATIVOS</b>	<b>DMO</b>	<b>FORÇA MÁXIMA</b>	<b>RIGIDEZ</b>
G7 x G6	p = 0,003	p = 0,016	p = 0,018
G8 x G6	p = 0,003	p = 0,002	p = 0,001

G8 x G7	p = 0,993	p = 0,670	p = 0,116
---------	-----------	-----------	-----------

Teste: (post hoc de Tukey)

### 3.8 Análise Comparativa dos Efeitos do Exercício

Os resultados das comparações dos efeitos do exercício em esteira (G2 e G3) e livre (G4 e G5) para densidade mineral óssea, força máxima e rigidez estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Comparação da densitometria óssea, força máxima e ensaio mecânico entre os grupos suspensos treinados (G2 e G3) e suspensos liberados (G4 e G5).

GRUPOS COMPARATIVOS	DMO	FORÇA MÁXIMA	RIGIDEZ
G2 x G4	P = 0,257	P = 0,454	P = 0,403
G3 x G5	P = 0,312	p = 0,333	P = 0,751

Teste: (t-student)

A comparação entre os grupos G2 x G4 e G3 x G5 mostrou que não houve diferença significativa para densidade mineral óssea, força máxima e rigidez óssea entre os grupos suspensos e treinados (G2, G3) e os grupos suspensos e liberados (G4, G5).

Os resultados das comparações entre os grupos 1, 2 e 3 para densidade mineral óssea, força máxima e rigidez óssea estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Comparação da densitometria óssea, força máxima e rigidez entre os grupos suspensos sacrificados (G1) e suspensos e treinados (G2, G3).

GRUPOS COMPARATIVOS	DMO	FORÇA MÁXIMA	RIGIDEZ
G3 x G1	p = 0,001	p = 0,001	p = 0,001
G3 x G2	p = 0,073	p = 0,003	p = 0,023
G2 x G1	p = 0,001	p = 0,001	p = 0,006

Teste: (post hoc de Tukey)

A comparação da densidade mineral óssea, para G3 x G1 ( $p < 0,001$ ) e G2 x G1 ( $p < 0,001$ ) mostrou que foram diferentes. Porém, na comparação entre os grupos G3 x G2 ( $p = 0,073$ ) não houve diferença estatística.

Com relação à força máxima e rigidez, houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos para os três cruzamentos.

#### 4. DISCUSSÃO

O decréscimo da massa óssea ocorrido durante o período de sub-carregamento pode aumentar o risco de fraturas no retorno às atividades físicas normais. A perda de massa óssea, em alguns casos, não é quantitativamente confiável ou compreendida, devido à imprecisão das técnicas de medida (CAVANAGH, 2005). Também, os efeitos do sub-carregamento do peso é observado em pessoas que permanecem em repouso por tempo prolongado no leito (PORTINHO et al, 2008).

Os dados oriundos dessa pesquisa podem ser úteis para determinar medidas de prevenção ou tratamento da osteopenia, para pacientes com osteoporose ou ainda para aqueles que necessitam permanecer acamados por longos períodos. Também podem auxiliar a instituir medidas terapêuticas de reabilitação adequadas nos casos de enfraquecimento ósseo provocado pela inatividade.

O rato foi escolhido como animal experimental pela facilidade de sua manutenção em laboratório, pelo baixo custo e, principalmente pela possibilidade de simular o sub-carregamento. E, também, segundo NORMAN et al. (2000), pode ser aceito como modelo para estudos em humanos, respeitando-se diferenças entre o comportamento dos tecidos dos ratos e dos humanos.

O modelo utilizado nesta pesquisa foi baseado no proposto por SILVA e VOLPON (2004) e permitiu a suspensão dos animais pela cauda, preservando a integridade, e permitindo a livre movimentação dos membros posteriores, porém sem descarga de peso.

Dentre as dificuldades encontradas, neste experimento, com o uso do sistema de fixação da cauda para a suspensão dos membros pélvicos dos animais, observou-se que alguns ratos se soltaram antes de completar o período estabelecido, provavelmente, devido à agitação e afrouxamento do sistema. E, outros animais, apresentaram necrose da extremidade da cauda, que também

foi relatada por NORMAN et al. (2000), SILVA e VOLPON (2004) e SHIMANO (2006). A partir destas observações, a extremidade da cauda passou a ser amputada de forma preventiva, sem trazer conseqüências para os animais e o experimento proposto.

O treinamento em esteira é um exercício físico muito estudado para recuperação estrutural do sistema músculo-esquelético (Van der WIEL et al., 1995; KANEPS; STOVER, 1997; NORMAN et al., 2000). Durante o exercício, com os ratos do experimento, observou-se dificuldade de adaptação dos animais ao modelo de treinamento em esteira, sendo que alguns tiveram que ser excluídos. Ao contrário do observado por SHIMANO, (2006) cujos animais se adaptaram facilmente a metodologia de trabalho utilizada.

Existem vários estudos com diferentes protocolos de exercício em esteira, mas foi seguido o protocolo utilizado por GAVA et al. (1995), com pequenas modificações, caracterizando um exercício de baixa intensidade (VERAS-SILVA et al., 1997), cujo uso pode ser justificado pelo período de hipocinesia dos membros pélvicos, com os animais apresentando perda de massa muscular e alterações na arquitetura óssea, contra-indicando o uso de atividade com intensidade moderada ou alta. Também, o treinamento utilizado preconiza exercício seguido de descanso evitando fadiga muscular e danos relacionados com o excesso de treinamento e mimetiza protocolo que pode ser adaptado a seres humanos.

Além da intensidade, segundo HOU et al (1990), os efeitos dos exercícios sobre o sistema esquelético variam de acordo com a maturidade esquelética e tipo de localização anatômica do osso. Outro fato que deve ser considerado no modelo utilizado é que os animais podem realizar contrações dinâmicas, porém com carga mínima e as alterações podem ser observadas nos músculos e nos ossos de acordo com o tempo de exposição a essas situações (MATSUMOTO et al, 1998).

Neste estudo a massa corporal dos animais diminuiu significativamente após 28 dias de suspensão, o mesmo foi relatado em outros trabalhos (NORMAN et al., 2000; SHIMANO, 2006). Provavelmente, houve diminuição do consumo alimentar durante a fase de adaptação ao modelo de suspensão, mas foi evidente a atrofia muscular dos membros pélvicos submetidos à hipocinesia. Após 28 dias de liberação todos os animais recuperaram a massa corporal, e

com o protocolo de treinamento de 8 semanas em esteira (G3), aumentaram significativamente a massa em relação ao G1 (suspenso sacrificado), de forma semelhante ao observado em G5, que foram mantidos livres após a suspensão (Tabela 1).

No trabalho de NORMAN et al., (2000), o treinamento promoveu apenas a recuperação da massa corporal, ao contrário do observado neste experimento que além da recuperação houve ganho, o que pode ser justificado pelos tempos de suspensão e treinamento maiores.

Outra reflexão a respeito dos resultados obtidos é que tanto o exercício em esteira quanto a atividade livre estimularam a recuperação da massa muscular (tabela 1) e da densidade óssea (Figura 8) indicando como resultado prático que nestas circunstâncias obteve-se um complexo músculo-esquelético mais forte e mais resistente.

#### **4.1 Análise Densitométrica**

Na análise dos efeitos da suspensão, ao se comparar os grupos suspensos (G1, G4 e G5) com os respectivos grupos controle não suspensos (G6, G7 e G8) foram verificadas diferenças significativas na densidade mineral óssea (DMO), ou seja, a suspensão por 28 dias foi suficiente para provocar diminuição da densidade óssea. Para FRATESCHI, (2002), durante o período de hipocinesia há alteração da relação reabsorção x formação óssea resultando em massa óssea diminuída.

No início da imobilização, a diminuição da solicitação mecânica resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea, temporariamente, sem a oposição da deposição (CORNWALL, 1984). Estima-se que aproximadamente 30% do total de perda óssea, induzida pela imobilização experimental em ratos, seja causada pelo aumento da reabsorção óssea e, aproximadamente 70% pela diminuição da formação (MINAIRE, 1989).

No comparativo do grupo suspenso e liberado para movimentação por 4 semanas (G4) e seu controle (G7) foi observada diferença significativa, demonstrando que a atividade livre em gaiola por 28 dias, após o mesmo período de imobilização, não foi suficiente para recuperar a densidade óssea aos níveis do controle (Figura 8), o que concorda com os estudos de TREBACZ

(2001), onde a movimentação livre por quatro semanas não foi suficiente para recuperar a densidade óssea em animais que permaneceram em imobilização por duas semanas .

Por outro lado, no comparativo de G5 x G8, os resultados foram favoráveis, ou seja, os animais suspensos por 4 semanas e liberados posteriormente por 8 semanas para atividade livre em gaiola, conseguiram recuperar a densidade mineral aos níveis do grupo controle (Figura 8). Estes dados se assemelham aos encontrados por SHIMANO (2006).

Na análise do efeito do tempo de atividade em esteira (G2 e G3) e o grupo suspenso (G1), foram comparados os grupos G3 x G2, G3 x G1 e G2 x G1. Somente na comparação de G3 x G2, não houve diferença (Tabela 6).

Na análise do efeito do tempo de atividade livre (G4 e G5) e o grupo suspenso (G1), foram comparados os grupos G5 x G1, G4 x G1 e G5 x G4. Os cruzamento entre G5 x G1 e G4 x G1 demonstraram diferença para a DMO (Figura 8). O cruzamento de G5 x G4 não demonstrou diferença ( $p=0,473$ ).

A suspensão dos membros pélvicos determinou diminuição da densidade óssea que foi revertida pelo treinamento em esteira e pela atividade livre em gaiola, entretanto, sem alcançar os níveis do grupo controle (G8), composto de ratos da mesma idade e que não foram submetidos ao processo de hipocinesia.

Os dados demonstram que ambas as atividades foram capazes de reverter a diminuição da DMO, nos períodos iniciais, quatro semanas, sem resultados significativos em avaliações posteriores, uma vez que os resultados para DMO passam a se assemelhar ao do grupo controle (G8). Também, deve ser considerado que o tempo necessário para recuperação total é maior que o necessário para produzir as mudanças osteopênicas no osso (KANNUS,1994).

Na análise do efeito do tempo sobre os grupos controle (G6, G7 e G8), foram comparados os grupos G8 x G6, G7 x G6 e G8 x G7. Os cruzamentos de G8 x G6 e G7 x G6 demonstraram diferença significativa. Para o comparativo entre G8 x G7 não houve diferença ( $p=0,993$ ). Provavelmente, os resultados (Figura 8) refletem o amadurecimento do tecido ósseo ao longo tempo, com tendência a estabilização aos 121 dias. Segundo Carvalho (2001) do começo ao

fim da vida o sistema esquelético ajusta-se para manter a integridade estrutural dos ossos.

Na análise do efeito do exercício em esteira (G2 e G3) em relação à atividade livre (G4 e G5), quando comparados os grupos G2 x G4 e G3 x G5 não foram observadas diferenças. Percebe-se que não foi observado o efeito positivo do treinamento orientado em esteira quando este foi comparado à atividade livre. Esperava-se uma eficiência maior do treinamento físico em relação a movimentação livre em gaiola, mas foi encontrada uma recuperação parcial de ambos em relação ao controle (G8) e semelhante entre os dois métodos de tratamento propostos. Pode-se inferir que a maior duração da atividade física em esteira e a maior intensidade dos exercícios poderiam interferir positivamente na DMO, uma vez que podem submeter os ossos à maior carga e conseqüentemente, maiores deposição de tecido ósseo, concordando com as observações de YEH et al., (1993) e KANEPS (1997). Todavia, NORMAN et al. (2000), usando esse mesmo método de investigação, relataram que ratos submetidos ao treinamento em esteira apresentaram densidade óssea do fêmur significativamente superior aos animais que não foram treinados, provavelmente devido ao período de suspensão e ao protocolo de reabilitação em esteira terem sido diferentes.

Também, evidencia-se pelos resultados que a atividade física, mesmo não programada, foi capaz de restaurar a perda de massa óssea oriunda do desuso e que programas de reabilitação podem ser instaurados, independentemente do uso de equipamentos dispendiosos.

#### **4.2 Ensaio Mecânico**

Na análise dos efeitos da suspensão sobre a força máxima admitida e rigidez, ao se comparar os grupos suspensos (G1, G4 e G5) com os respectivos grupos controle não suspensos (G6, G7 e G8), foram verificadas diferenças significativas para G1 x G6 e G4 x G7. Isto demonstra que a suspensão pela

cauda provocou maior fragilidade óssea, quando comparado com os grupos não suspensos. As alterações na estrutura óssea, após 28 dias de suspensão, também foram observadas por CARVALHO (2001), FRATESCHI (2002), GUAGNELI (2006) e SHIMANO (2006) em diferentes modelos animais. A comparação de G5 x G8 não demonstrou diferença para força máxima ( $p=0,219$ ) e rigidez ( $p=0,062$ ), permitindo inferir que a movimentação livre durante 8 semanas após um período de hipocinesia de 28 dias, promoveu a recuperação das propriedades ósseas estudadas. Ou seja, o período de 8 semanas de atividade livre na caixa permitiu a regulação do balanço osteogênico, que se encontrava alterado devido a suspensão.

Na análise do efeito do tempo de atividade em esteira (G2 e G3) e o grupo suspenso (G1), os cruzamentos entre G3 x G1, G3 x G2 e G2 x G1 (TABELA 6) evidenciaram diferenças significativas reafirmando que períodos maiores de treinamento proporcionam melhores resultados na recuperação das propriedades ósseas, fato também encontrado por YEH et al., (1993).

Na análise do efeito do tempo de atividade livre (G5 e G4) e o grupo suspenso (G1), foram comparados os grupos G5 x G1, G4 x G1 e G5 x G4. A comparação entre os grupos G5 x G4 e G4 x G1, para os resultados de força máxima e rigidez, não foi significativa (Tabela 3), evidenciando que o período de 4 semanas foi insuficiente para a recuperação destas propriedades mecânicas. Estes resultados diferem dos obtidos por FRATESCHI (2002), que demonstrou que ratos imobilizados por 21 dias seguidos de atividade física e movimentação livre por 4 semanas recuperaram os valores das propriedades mecânicas. Essa diferença pode ser explicada pelo período menor de suspensão em relação ao período de reabilitação, pois de acordo com KANNUS (1994), o tempo para recuperação da resistência óssea é maior do que o tempo necessário para que ocorra mudanças osteopênicas no osso.

Quando comparados G5 x G1, evidencia-se que o tempo de exercício livre foi capaz de alterar favoravelmente os valores dos parâmetros estudados, inclusive tornando-os semelhantes ao grupo controle (G5 x G8, TABELA 2). Segundo TURNER (1999) e HART et al. (2001), a aplicação de forças mecânicas durante a atividade física representa um estímulo mecânico e causa

pequenas deformações na arquitetura óssea, favorecendo a osteogênese. O decréscimo da atividade determina reabsorção do osso.

Em analogia, a porosidade em materiais estruturais exerce uma forte influência em suas propriedades mecânicas (HASHIN, 1962; BROWN, 1964). Nos ossos acontece de forma similar, sendo que a força e a rigidez variam inversamente com o aumento da porosidade, e de forma contrária, estas propriedades mecânicas melhoram quando a densidade óssea aumenta (GALANTE, 1970; EVANS, 1973; CARTER & HAYES, 1977; MARTIN, 1993).

Na análise do efeito do tempo sobre os grupos controle (G6, G7 e G8), foram comparados os grupos G8 x G6, G7 x G6 e G8 x G7. As diferenças significativas das propriedades mecânicas para G8 x G6 e G7 x G6 sugerem, de acordo com EVANS (1969), SOUZA (1974) e CARTER e SPLENGER (1978), que existem diferenças na composição microestrutural dos ossos de animais de diferentes faixas etárias, e que assim como na avaliação da DMO, existe um período de estabilização destas variáveis (força máxima e rigidez), o que pode justificar os resultados de G8 x G7 não terem sido significativos (TABELA 4, FIGURAS 9 e 10).

Na análise do efeito do exercício em esteira (G2 e G3) em relação à atividade livre na caixa (G4 e G5), a confrontação de G2 x G4 e G3 x G5 (TABELA 5) não evidencia diferença significativa, demonstrando que tanto a atividade em esteira quanto a movimentação livre na caixa promoveram a recuperação das propriedades ósseas estudadas de forma semelhante, estando de acordo com os achados de VICENTINI (2006).

Considerando que carga máxima e rigidez são importantes propriedades que expressam o enfraquecimento do osso e maior risco de fraturas. Estas estavam significativamente alteradas nos animais suspensos. Analisando em conjunto as propriedades mecânicas, verifica-se que houve melhora quando se comparam os grupos ao longo do tempo, o que indica aumento global da resistência óssea aos esforços aplicados, mostrando tanto a efetividade do sistema de suspensão em provocar o enfraquecimento do osso, quanto do exercício, livre ou em esteira, em promover a recuperação da qualidade do osso. Ou seja, os animais saíram do sistema de suspensão com o osso enfraquecido,

o que é muito importante em termos do que fazer a seguir, no caso de se considerar seres humanos submetidos a um processo de reabilitação em decorrência da exposição a uma condição de microgravidade real ou em função de acamamento prolongado ou em grandes imobilizações. Nesse sentido, esses dados fornecem subsídios para serem testados programas ou técnicas de reabilitação.

Na educação física, na fisioterapia, e em outras áreas onde os profissionais utilizam a atividade física, é importante conhecer as relações do exercício com as doenças. No entanto, algumas dúvidas persistem e, exemplificando, ainda não se sabe qual a quantidade e a intensidade de atividade física suficientes para desencadear os efeitos benéficos para a saúde. Sabe-se apenas que quando excessivas são prejudiciais. Por outro lado, os dados desta pesquisa deixam claro que qualquer tipo de atividade física parece ser saudável, conduzida ou livre, talvez esportiva ou laboral em humanos, desde que compatível com a condição física do paciente.

Nesta linha de raciocínio, torna-se importante retornar ao conceito de medicina do exercício que é o estudo das relações que existem entre os exercícios físicos e as doenças, nos aspectos profiláticos, terapêuticos e de concomitância. Em humanos, existem estudos (MAROULAKIS et al., 1993; NIEMAN, 1999; LANE et al., 2002) que comprovam que a atividade física atua diminuindo o stress emocional, alterando favoravelmente a constituição sangüínea, reduzindo a gordura corporal, ativando o metabolismo dos nutrientes, modulando o sistema imunológico e proporcionando aptidão física para uma boa qualidade de vida. Os resultados desta pesquisa evidenciam que até sob condições de perda de aptidão física, o exercício orientado, ou não, é capaz de atuar aumentando a massa muscular e a densidade óssea.

## 5. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este experimento é possível concluir que:

a suspensão pela cauda provoca diminuição da densidade e do conteúdo mineral ósseo do fêmur de ratos submetidos à hipocinesia;

o treinamento em esteira e a atividade livre na caixa promove recuperação da densidade e do conteúdo mineral ósseo, de forma semelhante e ao longo do tempo;

o período de suspensão pela cauda diminui a rigidez óssea e a força necessária para produzir fratura e,

o treinamento em esteira e a atividade livre aumentam a rigidez óssea e a força máxima admitida no terço médio, de forma semelhante e ao longo do tempo.

## 6. REFERÊNCIAS

APPEL, H.J. Skeletal muscle atrophy during immobilization. **Int. J. Sports Med.**, v.7, n.1, p.01-05, 1986

ASTRAND, P.O.; RODAHL, K. **Tratado de Fisiologia do Exercício**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Interamericana, p.246-252, 1980.

BROWN, S.D.; BIDDULPH, R.B.; WILCOX, P.D. A strength porosity relation involving different pore geometry and orientation. **Am Ceram Soc J**, v.47, p.320-323, 1964.

CANN, C.E.; GENANT, H.K; ETINGER, B.; GORDON, G.S. Spinal mineral loss in oophorectomized women. **J Am Med Assn**, v.244, p.2056-2059, 1980.

CARTER, D.R., HAYES, W.C. The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure. **J Bone J Surgery**, v.59, n.7, p.954-962, 1977.

CARTER, D.R.; SPLENGER, DM. Mechanical properties and composition of cortical bone, Clin **Orthopedics R Research**, n.135, s.3, p.192-217, 1978.

CARVALHO, C.M.M. **Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético**. 2001.61f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2001.

CAVANAGH, P.R.; LICATA, A.A.; RICE, A.J. Exercise and pharmacological countermeasures for bone loss during long-duration space flight. **Gravitational S Bio Bulletin**, v.18, n.2, p. 39-58, 2005.

CORNWAL, M. Biomechanics of noncontractile tissue. **A review. Phys Ter**, v.63, p.1869-1873, 1984.

DONALDSON, C.L.; HULLEY, S.B.; VOGEL, J.M.; HATTNER, R.S.; BAYERS, J.H.; MACMILLAN, D.E. Effect of prolonged bed rest on bone mineral. **Metabolis**, v.19, p.1071-1084, 1970.

EVANS, F.G. VINCENELLI, R. Relation of collagen fiber orientation to some mechanical properties of human cortical bone. **J Biomech**, v.2, p.63-69, 1969.

EVANS, F.G. Mechanichanics properties of bone. **J Biomech**, v.8, p.81-86, 1973.

FABRETTI, K.J.; LEITE, C.M.; DORNELLES, R.C.M.; LOUZADA, M.Q.J. Alterações Densitométricas e mecânicas em fêmures de ratas submetidas a stress térmico. **Rev. Vet. Zoot UNESP**, v.15, n.2, p.133, 2008.

FRATESCHI, M.E.B.J.M.; **Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso**. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

GALANTE, J.; ROSTOKER, W.; RAY, R.D.; Physical properties of trabecular bone. **Calcif. Tissue. Res**, v.5, n.3, p.236-246, 1970.

GAVA, N.S., VÉRAS-SILVA, A.S., NEGRÃO, C.E. & KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac  $\beta$ -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens.* 26:1129-1133, 1995.

GOULD III, J.A. Biomecânica básica na terapia esportiva e ortopédica. In. **Fisioterapia na ortopedia e medicina do esporte.** Manole, 1993. p 3-83.

GUAGNELI, R.S. **Propriedades mecânicas do osso esponjoso e cortical do rato, após período de imobilização por aparelho gessado ou suspensão pela cauda.** Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - 2006.

HASHIM, Z. Elastic moduli of heterogeneous materials. *J Appl Mec*, v.29, p.143, 1962.

HART, K.J.; SHAW, J.M.; VAJDA, E. Swim-trained rats have greater bone mass density strength and dynamics. *J Appl Physiol*, v.91, p.1663-1668, 2001.

HOU, J.C.-H.; SALEM, G.J.; ZERNICKE, R.F.; BARNARD, R.J. Structural and mechanical adaptations of immature trabecular bone to strenuous exercise. *J Appl Physiol*, v.69 (4), p.1309-1314, 1990.

JUNQUEIRA. J.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** Guanabara, p.159-178, 2004.

KANEPS, A.J.; STOVER, S.M.; LANE, N.E. Changes in canine cortical and cancellous bone mechanical properties following immobilization and remobilization with exercise. *Bone*, V.21, n.5, 1997.

KANNUS, P.; JOSZA, L.; RENSTROM, P.; JARVINEN, M.; KVIST, M.; VIENO, T.; JARVINEN, H.A, NATRIA, A. Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization- induced muscle atrophy. *J Appl Physiol*, v.84, p.1418-1424, 1994.

LANE, A.M.; CRONE-GRANT, D. Mood changes following exercise. **Percept Motor Skills**, 94, 732-734, 2002.

LOUZADA, M.Q. J, Densitometria óptica radiográfica em análise de densidade óssea de mandíbula de coelhos castrados. **Rev. Fac. Odontol.** v. 13, n.1, p. 33 – 38, 2001.

MAEDA, H.; KIMMEL, D.B.; RAAB, D.M.; LANE, N.E. Musculoskeletal recovery following hindlimb immobilization in adult female rats. **Bone**, v.14, p.153-159, 1993.

MAROULAKIS, E; ZERVAS, Y. Effects of aerobic exercise on mood of adult women. **Percept Motor Skills**, 76, 795-801, 1993

MARTIN, RB.; BOARDMAN, D.L. The effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bovine cortical bone bending properties. **J. Biomech.**, v.26, n.9, p.1047-1054, 1993.

MATHEY, J.; HORCAJADA-MOLTENI, M.-N.; CHANTERANNE, B.; PICHERIT, C.; PUEL, C.; LEBECQUE, P.; CUBIZOLES, C.; DAVICCO, M.-J.; COXAM, V.; BARLET, J.-P. Bone mass in obese diabetic Zucker rats: influence of treadmill running. **Calcif Tissue Int**, v.70, p.305-311, 2002.

MATSUMOTO, T.; NAKAYAMA, K.; KODAMA, Y.; FUSE, H.; NAKAMURA, T.; FUKOMOTO, S. Effect of mechanical unloading and reloading on periosteal bone formation and gene expression in tail-suspended rapidly growing rats. **Bone**, v.22, n. 5, p. 89-93, 1998.

MINAIRE, P. Immobilization osteoporosis. **A review. Clin Rheumatol**, v.8, p.95-103, 1989.

MOREY, E.R. Spaceflight and bone turnover: correlation with a new rat model of weightlessness. **BioScience**, v.29, n.3, p.168-172, 1979.

MOREY-HOLTON, GLOBUS RK. Hindlimb unloading of growing rats: a model for predicting skeletal changes during space flight. **Bone** 22:83-88, 1998.

NIEMAN, D.C. **Exercício e Saúde**, Manole, 1999, 317p

NORMAN, T.L.; BRADLEY-POPOVICH, G.; CLOVIS, N.; CUTLIP, G.; BRYNER, R.W. Aerobic Exercise as a countermeasure for microgravity-induced bone loss and muscle atrophy in a rat hindlimb suspension model. **Aviat Space Environ Med**, v. 71, n. 6, p. 593 – 598, 2000.

PORTINHO, D.; BOIN, V.G.; BERTOLINI, G.R.F. Efeitos sobre o tecido ósseo e cartilagem articular provocados pela imobilização e remobilização em ratos Wistar. **Rev. Brás Med Esporte**, v. 14, n. 5, Oct. 2008.

RUBIN, C.T. Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. **Calcif Tissue Int**, v.37, p.411-417, 1985

SHIMANO, M.M. **Microestruturas e propriedades mecânicas de osso cortical e trabecular de ratos, após período de suspensão pela cauda e exercitação**. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP - 2006.

SILVA, A.V. **Modelo de suspensão pela cauda e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato**. 2002. 71f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo, 2002.

SILVA, A.V.; VOLPON, J.B.; Modelo de simulação de microgravidade e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato. **Acta Ortop Bras**. 2004; 12:22-31.

SOUZA, S.A. **Ensaaios mecânicos de materiais metálicos**. São Paulo: Ed. Edgard Blucher, p.3-58, 1974.

TREBACZ, H. Disuse-induced deterioration of bone strength is not stopped free remobilization in young adult rats. **J. Biomech**, v.34, n.12, p.1631-1636, 2001.

TUREK, S.L.; **Ortopedia: Princípios e sua aplicação**. V.1, Editora Manole LTDA. Tradução da quarta edição norte-americana, 1991.

TURNER, R.T. Mechanical signaling in the development of postmenopausal osteoporosis. **Lupus, Houndmills**, v.8, p.388-392, 1999.

TUUKKANEN, J.; PENG, Z.; VAANANEN, H.K. Effect of running exercise of the bone loss induced by orchidectomy in the rats. **Calcif Tissue Int**, v.55, p.33-37, 1994.

Van der WIEL, H.E.; LIPS, P.; GRAAFMANS, W.C.; DANIELSEN, C.C.; NAUTA, J.; Van LINGEN, A. Additional weight-bearing during exercise is more important than duration of exercise for anabolic stimulus of bone: a study of running exercise in female rats. **Bone**, v.16, n.1, p.73-80, 1995.

VERAS-SILVA, A.C., MATTOS, K.C., GAVA, N.S., BRUM, P.C., NEGRÃO, C.D. & KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol.** 273:H2627-H2631, 1997.

VICENTNI, C. R. **Análise densitométrica, histomorfométrica e biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira**. 2006. 82f. Mestrado – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária, 2006.

WESTLIN, N.; E. Loss of bone mineral after colles fracture. **Clin Orthop Rel Res**, v.102, p.194-199, 1974.

WIEL, H.E.; LIPS, P.; NAUTA, J.; NETELEMBO, J.C.; HAZEMBERG, G.J. Biochemical parameters of bone turnover during ten days of bed rest and subsequent mobilization. **Bone min**, v.13, p.123-129, 1991.

WRONSKI, T.J.; MOREY-HOLTON, E.R. Skeletal response to simulated weightlessness: a comparison of suspension techniques. **Aviate Space Environ Med**, v.8, p.58-63, 1983.

YEH, J.K.; ALOIA, J.F.; TIERNEY, J.M.; SPRINTZ, S. Effect of treadmill exercise on vertebral and tibial bone mineral content and bone mineral density in the aged adult rat: Determined by dual energy X-ray absorptiometry. **Calcif Tissue Int**, v.52, p.234-238, 1993.

## ANEXO 1

**VALORES DO CONTEÚDO MINERAL ÓSSEO, ÁREA, DENSIDADE MINERAL ÓSSEA, FORÇA MÁXIMA E RIGIDEZ DE CADA ANIMAL EM SEUS RESPECTIVOS GRUPOS.**

### GRUPO 1 – Animais suspenso e sacrificados.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
1.1	0,142	1,412	0,101	91,63	212,71
1.2	0,194	1,194	0,164	82,74	139,68
1.3	0,231	1,307	0,177	116,76	321,42
1.4	0,196	1,299	0,151	89,25	214,97
1.5	0,224	1,373	0,163	82,68	138,35
1.6	0,193	1,364	0,142	90,92	232,37
1.7	0,185	1,343	0,138	120,82	329,61
Média	<b>0,195</b>	<b>1,327</b>	<b>0,148</b>	<b>96,40</b>	<b>227,02</b>
DP	0,029	0,071	0,025	15,76	76,71

### GRUPO 2 – Animais suspensos, treinados em esteira por 4 semanas e sacrificados.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
2.1	0,27	1,312	0,206	152,21	398,67
2.2	0,293	1,51	0,194	149,43	389,02
2.3	0,308	1,408	0,219	147,69	394,06
2.4	0,29	1,39	0,209	147,45	318,37
2.5	0,275	1,411	0,195	140,48	407,57
2.6	0,292	1,491	0,196	123,92	347,65
2.7	0,276	1,442	0,191	124,24	289,62
Média	<b>0,286</b>	<b>1,423</b>	<b>0,201</b>	<b>140,77</b>	<b>363,57</b>
DP	0,013	0,066	0,010	11,94	45,66

**GRUPO 3** – Animais suspensos, treinados em esteira por 8 semanas e sacrificados.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
3.1	0,384	1,564	0,245	210,65	563,64
3.2	0,366	1,516	0,242	194,41	460,59
3.3	0,33	1,509	0,219	173,21	328,2
3.4	0,306	1,371	0,223	149,89	410,85
3.5	0,351	1,708	0,206	173,6	483,21
Média	<b>0,347</b>	<b>1,534</b>	<b>0,227</b>	<b>180,35</b>	<b>449,280</b>
DP	0,030	0,121	0,016	23,13	87,314

**GRUPO 4** – Animais suspensos, mantidos em vida livre por 4 semanas e sacrificados.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
4.1	0,338	1,453	0,232	158,59	429,36
4.2	0,308	1,391	0,221	151,88	376,6
4.3	0,248	1,171	0,211	117,22	318,72
4.4	0,318	1,555	0,205	172,57	441,02
4.5	0,273	1,395	0,196	139,25	359,65
4.6	0,288	1,473	0,196	144,67	372,33
4.7	0,295	1,461	0,202	144,09	388,88
Média	<b>0,295</b>	<b>1,414</b>	<b>0,209</b>	<b>146,90</b>	<b>383,79</b>
DP	0,030	0,120	0,013	17,19	41,59

**GRUPO 5** – Animais suspensos, mantido em vida livre por 8 semanas e sacrificados.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
5.1	0,324	1,531	0,211	148,92	332,01
5.2	0,346	1,563	0,221	173,73	511,99
5.3	0,352	1,857	0,19	166,06	352,44
5.4	0,34	1,462	0,233	173,6	504,24
5.5	0,371	1,495	0,248	198,73	524,37
5.6	0,298	1,475	0,202	171,09	436,61
5.7	0,49	1,946	0,252	217,01	610,51
Média	<b>0,360</b>	<b>1,618</b>	<b>0,222</b>	<b>178,45</b>	<b>467,45</b>
DP	0,062	0,198	0,023	22,45	99,64

**GRUPO 6** - Animais não suspensos e sacrificados no mesmo tempo de G1.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
6.1	0,184	1,558	0,118	141,9	395,88
6.2	0,292	1,412	0,207	140,48	357,24
6.3	0,268	1,291	0,208	131,91	363,25
6.4	0,272	1,416	0,192	151,69	359,9
6.5	0,28	1,476	0,19	153,17	361,46
6.6	0,262	1,293	0,202	152,53	377,67
6.7	0,267	1,3	0,205	133,78	346,63
6.8	0,301	1,439	0,209	176,56	443,91
Média	<b>0,277</b>	<b>1,375</b>	<b>0,202</b>	<b>148,59</b>	<b>375,743</b>
DP	0,014	0,078	0,008	15,23	31,298

**GRUPO 7-** Animais não suspensos, mantidos livres em gaiola e sacrificados no mesmo tempo de G2 e G4.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
7.1	0,332	1,332	0,249	193,32	498,59
7.2	0,391	1,517	0,258	220	598,07
7.3	0,432	1,595	0,271	233,4	633,02
7.4	0,323	1,467	0,22	162,13	395,33
7.5	0,403	1,704	0,233	170,44	347,03
7.6	0,299	1,398	0,214	155,11	474,42
7.7	0,361	1,707	0,211	173,21	489,31
7.8	0,35	1,516	0,231	173,86	423,09
Média	<b>0,366</b>	<b>1,558</b>	<b>0,234</b>	<b>184,02</b>	<b>482,358</b>
DP	0,046	0,117	0,023	30,15	97,000

**GRUPO 8** Animais não suspensos, mantidos livres em gaiola e sacrificados no mesmo tempo de G3e G5.

Nº	CMO gr	AREA cm <sup>2</sup>	DMO g/cm <sup>2</sup>	F. Max (N)	RIGIDEZ (x10 <sup>3</sup> N/m)
8.1	0,321	1,451	0,221	157,55	467,48
8.2	0,299	1,435	0,208	155,75	464,55
8.3	0,361	1,575	0,229	187,2	572,89
8.4	0,41	1,675	0,245	217,61	538,47
8.5	0,413	1,589	0,26	225,34	581,41
8.6	0,336	1,41	0,238	187,32	550,68
8.7	0,39	1,612	0,242	208,72	606,26
8.8	0,442	1,728	0,255	226,38	672,83
Média	<b>0,379</b>	<b>1,575</b>	<b>0,240</b>	<b>201,19</b>	<b>556,821</b>
DP	0,050	0,117	0,017	25,81	69,318