UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA

COMPARAÇÃO DO USO DE DUAS MODALIDADES DE TREINAMENTO EM MEIO AQUÁTICO NA PREVENÇÃO DO DÉFICIT ÓSSEO EM RATOS DIABÉTICOS

RECIFE
2014

PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA

COMPARAÇÃO DO USO DE DUAS MODALIDADES DIFERENTES DE TREINAMENTO EM MEIO AQUÁTICO NA PREVENÇÃO DO DÉFICIT ÓSSEO EM RATOS DIABÉTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do Grau de Mestre em Fisioterapia.

Linha de Pesquisa: Desempenho físico-funcional e qualidade de vida.

Orientadora: Prof[a] Dr[a] Silvia Regina Arruda de Moraes.

RECIFE

2014

Catalogação na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S587c Silveira, Patrícia Verçoza de Castro.
Comparação do uso de duas modalidades diferentes de treinamento em meio aquático na prevenção do déficit ósseo em ratos diabéticos / Patrícia Verçoza de Castro Silveira. – 2014.
120 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Silvia Regina Arruda de Moraes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-graduação em Fisioterapia. Recife, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Densitometria. 2. Diabetes mellitus. 3. Fêmur. 4. Exercício. 5. Propriedades biomecânicas. I. Moraes, Silvia Regina Arruda de (Orientadora). II. Título.

616.858 89 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-331)

“COMPARAÇÃO DO USO DE DUAS MODALIDADES DE TREINAMENTO EM MEIO AQUÁTICO NA PREVENÇÃO DO DÉFICIT ÓSSEO OBSERVADO NO DIABETES EXPERIMENTAL”.

PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA

APROVADA EM: 16/05/2014

ORIENTADORA: PROFª. DRª. SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROFª. DRª MARIA DO SOCORRO BRASILEIRO SANTOS – EDUCAÇÃO FÍSICA/UFPB

PROF. DR. EDUARDO CARVALHO LIRA – FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA/UFPE

PROF. DR. RODRIGO RIBEIRO DE OLIVEIRA – FACULDADE DE MEDICINA/UFC

Visto e permitida à impressão

Coordenador(a) do PPGFISIOTERAPIA/DEFISIO/UFPE

Com todo meu amor e minha gratidão, dedico este trabalho:

Aos meus pais, *Petronilia* e *Jorge*, por terem me dado a vida e me ensinado o valor do amor e da família.

Aos meus irmãos, *Tatiana, Roberta e Jorge Neto*, pelo companheirismo e amizade em todos os momentos da minha vida.

À minha avó, *Enecila Silveira "In Memoriam"*, por ter me dado o maior amor do mundo e ter sido sempre a grande incentivadora da minha vida.

AGRADECIMENTOS

O mestrado foi parte uma etapa fundamental na minha vida profissional, um caminho que escolhi seguir e que hoje eu vejo o quanto me fez crescer como pessoa e como fisioterapeuta. No entanto, foi uma caminhada onde contei com o apoio de muitas pessoas especiais e é com muito carinho que eu agradeço...

A *Deus*, por guiar essa minha caminhada sem jamais me deixar fraquejar ou temer as dificuldades. Obrigada Pai, pelas pessoas maravilhosas que colocaste em minha vida e também pelas dificuldades que surgiram nessa caminhada, pois com Tua ajuda e proteção, consegui vencê-las e me tornar mais forte e mais confiante no Teu amor.

À minha amada mãe e melhor amiga, *Petronila*, obrigada por estar comigo em todos os momentos, me aconselhando, sendo paciente e presente como ninguém diante dos momentos difíceis que apareceram nesses últimos anos. Você é meu porto seguro e meu maior amor.

Aos meus irmãos, *Tatiana*, *Roberta* e *Jorge Neto*, obrigada por serem os melhores irmãos do planeta. Vocês são minhas almas gêmeas, meus melhores amigos, as pessoas em quem eu mais confio no mundo e é por vocês que eu luto sempre para crescer na vida.

Aos meus familiares, obrigada pelo carinho, torcida e ajuda em todos os momentos.

Às minhas grandes amigas de longa data, minhas irmãs *Mariana Gama e Ana Ester Véras*, obrigada por existirem na minha vida dessa maneira e por sempre estarem ao meu lado nos momento cruciais da vida.

Aos meus amigos da faculdade, em especial *Marcos Galdino, Amanda Santiago, Camilla Montarroyos, Nathalia Padilha, Lana Loibman e Rennan Gondin*, obrigada pela amizade de vocês, é um presente de Deus na minha vida.

À minha orientadora, *Sílvia Regina Arruda de Moraes*, obrigada pela oportunidade dada desde a iniciação científica até o mestrado, foi um período de aprendizado sem tamanho.

Aos meus *irmãos científicos* do LAPLAN: *Marcos Galdino, Cybelle Nery, Ana Cristina, Márcio Bezerra, Deniele Lós, Kamilla Dinah, Karyne, Raissa, Thainá, Gabriel, Marcos Vinícius, Ana Camila, Rafael, Filipe, Bruna, Hianny, Rodrigo, Anna Karollyna e Diego Oliveira,* pelo empenho e apoio ao longo desses dois anos, pela amizade de vocês, pelos momentos de descontração e diversão, enfim, por tudo.

Aos meus estagiários e amigos *Gabriel*, *Ana Camila* e *Raissa*, pela ajuda e companheirismo durante a pesquisa e pela dedicação para com os experimentos.

Aos meus amigos da turma do Mestrado em Fisioterapia, *Deniele Lós, Débora Wanderley, Catarina Rattes, Renata Pereira, Luan Simões, Larissa Carvalho, Águida Foerster, Sérgio Rocha, Vinícius Machado, Moisés Costa, Matheus Soares, Jarly Oliveira e Elaine Lima*

Ao *Departamento de Fisioterapia da UFPE*, especialmente às secretárias da pós-graduação, *Niége Melo e Maria Carolina Henriques*, e a todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, obrigada pelo apoio durante todas as atividades do mestrado.

Ao *Laboratório de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande* (UFCG), em especial à *Profª Izabelle Marie* pela ajuda e disposição para realização dos ensaios mecânicos.

Ao *Departamento de Odontologia Clínica e Preventiva da UFPE*, em especial à *Profª Maria Luiza dos Anjos Pontual*, pela parceria que permitiu a realização das análises densitométricas.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio finaceiro e aos recursos provenientes do *Edital CNPq/Universal*.

RESUMO

Objetivo: Comparar os efeitos de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga com um protocolo de exercício de resistência de salto em meio aquático sobre o déficit ósseo de fêmures e os parâmetros clínicos e metabólicos de ratos diabéticos. **Métodos:** Cento e oito ratos machos, *Wistar*, 60 dias de vida, distribuídos em seis grupos com 18 animais: Grupo Controle Sedentário – GCS, Grupo Controle Natação – GCN, Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR, Grupo Diabético Sedentário– GDS, Grupo Diabético Natação – GDN e Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR. A indução ao diabetes foi feita por estreptozotocina. Os protocolos de exercício tiveram duração de 9 semanas. Foram avaliadas a ingestão de líquidos e sólidos, diurese, glicemia e peso corpóreo dos animais. Os fêmures direito e esquerdo dos animais foram coletados, pesados, aferidos seus comprimentos e encaminhados para as análises densitométrica e biomecânica, respectivamente. **Resultados:** Os animais de todos os grupos diabéticos apresentaram pesos corporais finais inferiores, e diurese, ingestão alimentar, consumo hídrico e níveis glicêmicos aumentados em relação aos controles ($p<0,05$). Os fêmures dos animais diabéticos mostraram pesos e comprimentos menores em relação aos animais dos grupos controles ($p<0,05$), e o peso dos fêmures dos animais do GDN foram menores comparados aos fêmures dos animais do GDS ($p<0,05$). Foi observada uma redução na tensão máxima e na força máxima nos fêmures no GDS em comparação aos controles ($p<0,05$); a força máxima dos fêmures no GDN mostrou-se reduzida em comparação aos animais no GDS ($p<0,05$); o módulo elástico e a força máxima dos fêmures no GDTR mostraram-se reduzidos em comparação ao GDS ($p<0,05$); e a deformação máxima dos fêmures apresentou-se aumentada no GDTR em relação ao GDS ($p<0,05$). Os animais do GDS apresentaram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral e no côndilo lateral do fêmur quando comparados aos animais do GCS ($p<0,05$). Os animais do GDTR mostraram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral comparados aos animais do GDS, e menor densidade na diáfise média do fêmur em relação ao GDS e GDN, além de maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em comparação ao GDS ($p<0,05$). Os animais do GDN apresentaram maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em relação ao GDS ($p<0,05$). **Conclusão:** O diabetes experimental promoveu intensas alterações metabólicas nos animais, assim como déficits biomecânico e densitométrico importantes na estrutura óssea do fêmur. As modalidades de exercício empregadas não foram eficientes em reverter os prejuízos biomecânicos, no entanto, conseguiram aumentar a densidade óssea na região do côndilo lateral do fêmur, representando um efeito osteogênico positivo dos exercícios aquáticos sobre uma área específica de osso trabecular.

Palavras Chave: Densitometria. Diabetes *mellitus*. Fêmur. Exercício. Propriedades biomecânicas; Ratos *Wistar.*

ABSTRACT

Objective: To compare the effect of a swimming exercise protocol without overload and a resistance exercise protocol in water on bone deficit of the femur and on clinical and metabolic parameters in diabetic rats. **Methods:** At the age of 60 days one hundred and eight male *Wistar* rats were divided into six groups with 18 animals each: Sedentary Control Group – SCG, Swimming Control Group – SwCG, Resistance Training Control Group – RTCG, Sedentary Diabetic Group – SDG, Swimming Diabetic Group – SwDG, and Resistance Training Diabetic Group – RTDG. Diabetic animals were induced to diabetes by streptozotocin. Exercise protocols had a 9 weeks duration. Were monitored during the experiment: water intake, food intake, dieresis, glucose and body weight. Right and left femurs were collected, their weighs and lengths were measured, and them they were referred to densitometric analysis and to biomechanical evaluation, respectively. **Results:** The animals of all diabetic groups had lower final body weights, and increased diuresis, food intake, water consumption and glucose levels compared to controls ($p<0.05$). The femurs of animals in all diabetic groups showed lower weights and lengths compared to control animals ($p<0.05$), and the femur weight of the GDN animals were lower compared to sendetary diabetic animals ($p<0.05$). A decrease in the maximum stress and maximum strength was observed in the femurs of GDS animals compared to controls ($p<0.05$); the femur maximum strength of GDN animals was reduced compared to GDS animals ($p<0.05$); the elastic modulus and maximum strength of the femurs of GDTR animals proved to be reduced compared to GDS ($p<0.05$); and the femur maximum strain increased in GDTR animals compared to GDS ($p<0.05$). The GDS animals had lower mean values of bone density in femur head and in femur lateral condyle when compared to GCS animals ($p<0.05$). The GDTR animals showed lower mean values of bone density in femur head compared to GDS animals and lower density in the middle femoral shaft compared to GDS and GDN animals, besides higher bone density in femur lateral condyle compared to GDS animals ($p<0.05$). The GDN animals had higher bone density in femur lateral condyle compared to GDS animals. **Conclusion:** Experimental diabetes promoted intense metabolic changes in animals as well as important biomechanical and densitometric deficit in femur bone structure. Any of exercise modalities used in this study were effective in reversing the biomechanical losses, however, were able to increase bone density in femur lateral condyle, representing a positive osteogenic effect of aquatic exercises on a specific area of trabecular bone.

Key Words: Biomechanical properties. Densitometry. Diabetes *mellitus.* Femur. Exercise. Wistar rats.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA – *American Diabetes Association*

AGEs - Produtos finais da glicação avançada

Al - Alumínio

C - Celsius

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEEA – Comissão de ética em experimentação animal

COBEA – Comité Brasileiro de experimentação animal

cm - Centímetro

Depto - Departamento

dL - Decilitro

DM – Diabetes Mellitus

DMO - Densidade mineral óssea

GH - Hormônio do crescimento

g - grama

GC – Grupo Controle

GCS – Grupo Controle Sedentário

GCN – Grupo Controle Natação

GCTR – Grupo Controle Treino de Resistência

GDS – Grupo Diabético Sedentário

GDN – Grupo Diabético Natação

GDTR – Grupo Diabético Treino de Resistência

GM – Gaiola metabólica

GT – Grupo Treinado

GLUT-4 - Transportador de Glicose Tipo 4

h - Hora

IDF – *International Diabetes Federation*

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina

kg - Quilograma

kN - Quilonewton

kVp - Quilovoltagem pico

LAPLAN - Laboratório de Plasticidade Neuromuscular

MPa - Mega Pascal.

mA - Miliampere

mm - Milímetro

mM - Milimolar

mL - Mililitro

mg - Miligrama

min - Minuto

N - Newtons

pH - Potencial hidrogeniônico

s – Segundos

SPSS – Statistical Package for Social Sciences

STZ - Estreptozotocina

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios do peso corpóreo, do peso do fêmur e do comprimento do fêmur dos grupos estudados.....39

Tabela 2. Valores médios da diurese (mL), consumo hídrico (mL) e ingestão alimentar (g) dos animais durante a GM1 (pré-indução), GM2 (pós-indução) e GM3 (pós-treinamento).....57

Tabela 3. Valores médios do peso do fêmur (g) e do comprimento do fêmur (cm) dos animais.....74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de formação dos Grupos Experimentais ao logo da pesquisa.....28

Figura 2. Procedimento de indução química do diabetes experimental com solução única de Estreptozotocina, através de injeção via intraperitoneal.....29

Figura 3. Gaiola Metabólica própria para ratos (Tecniplast 3701M081).....30

Figura 4. (A) Demonstração do exercício de natação; (B) Tanque cilíndrico para exercício de natação.....31

Figura 5. (A) Tanque para exercício de salto em meio aquático; (B) Demonstração do exercício de salto.....32

Figura 6. (A) Aparelho de raio-X Spectro 1070; (B) Disposição do fêmur no momento da tomada radiográfica.....33

Figura 7. (A) Máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X; (B) Fêmur posicionado na máquina de ensaio de flexão em três pontos.....34

Figura 8. Efeito do exercício de natação sem sobrecarga sobre as propriedades biomecânicas do fêmur de ratos.....40

Figura 9. (A) Máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X; (B) Fêmur posicionado na máquina de ensaio de flexão em três pontos.....53

Figura 10. Evolução ponderal (g) dos animais durante o período experimental.....55

Figura 11. Expressão da Glicemia (mg/dL) dos animais durante o período experimental.....56

Figura 12. Efeito do exercício de natação e do exercício de resistência sobre as propriedades biomecânicas dos fêmures dos ratos dos grupos estudados.....56

Figura 13. Efeito do exercício de natação e do exercício de resistência sobre as densidades ósseas radiográficas dos fêmures dos ratos dos grupos estudados.....75

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....17
2 INTRODUÇÃO.....19
3 REVISÃO DE LITERATURA.....21
3.1 Diabetes *Mellitus* (DM) 21
3.2 Diabetes e o déficit na estrutura óssea.....22
3.3 Diabetes, Osso e Exercício Físico.....24
4 HIPÓTESES.....25
5 OBJETIVOS.....26
5.1 Objetivo Geral.....26
5.2 Objetivos Específicos.....26
6 MATERIAL E MÉTODOS.....27
6.1 Desenho do Estudo.....27
6.2 Local do Estudo.....27
6.3 Amostra.....27
6.4 Grupos Experimentais.....27
6.5 Indução ao Diabetes.....28
6.6 Avaliação Clínica e Metabólica.....29
6.7 Exercício Físico.....30
6.7.1 Natação.....30
6.7.2 Exercício de Resistência.....31
6.8 Eutanásia e Coleta do Material.....32
6.9 Análise Densitométrica do Fêmur.....32
6.10 Ensaio Mecânico do Fêmur.....33
6.11 Análise Estatística.....34
7 RESULTADOS.....35
7.1 **Artigo Original 1**.....35
7.2 **Artigo Original 2**.....48
7.3 **Artigo Original 3**.....69
8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....90
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....91
REFERÊNCIAS.....92
APÊNDICES.....111

Apêndice A – Publicação Paralela ……..……111
Apêndice B – Publicação Paralela 112
Apêndice C – Publicação Paralela .....……...….113
Apêndice D – Publicação Paralela ..……..….114
Apêndice E – Publicação Paralela ……..115
Apêndice F – Publicação Paralela ……..……....116
Apêndice G – Publicação Paralela .....……117
Apêndice H – Publicação Paralela .....……....118
Apêndice I – Publicação Paralela ..……....119
Apêndice J – Publicação Paralela 120
ANEXOS.....109
Anexo A – Ofício do Comitê de Ética.....109
Anexo B – Submissão do Artigo Original 1.....110

1. APRESENTAÇÃO

Esta dissertação constitui-se mais um produto de uma das linhas de pesquisa desenvolvidas no Laboratório de Plasticidade Neuro Muscular - Departamento de Anatomia da UFPE, que visa estudar as comorbidades resultantes do diabetes *mellitus* (DM) nas estruturas do aparelho locomotor, mediante experimentações com modelos animais.

Na avaliação do DM, ainda são escassas as investigações a respeito das complicações que acometem o sistema musculoesquelético, que, quando presentes contribuem enormemente para agravar o estado geral de saúde e, consequentemente, a qualidade de vida dos indivíduos diabéticos (AKTURK *et al*., 2002; BOLTON *et al*., 2005).

Em estudos prévios realizados por nosso grupo de pesquisa, demonstramos o envolvimento das estruturas que compõem o aparelho locomotor a partir da constatação de um estado de fragilidade tendínea em animais com diabetes crônica experimental não controlada (OLIVEIRA *et al*., 2011) e, posteriormente surgiram outros estudos que verificaram efeitos benéficos do exercício aeróbio em esteira (OLIVEIRA *et al*., 2012) assim como benefícios do exercício de natação de caráter preventivo (BEZERRA *et al*., 2013) e terapêutico (NERY, 2013) sobre as alterações na estrutura tendínea no diabetes experimental.

A partir desses resultados no tecido tendíneo, pensou-se em ampliar a investigação a outras estruturas do aparelho locomotor.

Em se tratando do tecido ósseo, os prejuízos do DM sobre as suas propriedades biomecânicas têm sido relatados com frequência na literatura, entretanto, ainda não está claro se o exercício físico administrado nessas condições poderia agir como atenuante dessas alterações ósseas.

Sendo assim, devido à falta de consenso observada na literatura especializada em relação às respostas de distintas modalidades de exercício físico sobre o tecido ósseo no diabetes, resolvemos investigar comparativamente, o efeito de dois protocolos de exercício (exercício aeróbio de natação e exercício resistido de salto livre com sobrecarga) como ferramentas para atenuar, em longo prazo, a perda de massa óssea e as alterações biomecânicas dos fêmures, bem como para o controle dos parâmetros clínicos e metabólicos de ratos com diabetes experimental.

Atendendo às normas vigentes do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Fisioterapia da UFPE para a elaboração da dissertação, o presente exemplar foi estruturado da seguinte maneira:

1. Introdução
2. Revisão de Literatura
3. Hipótese
4. Objetivos
5. Materiais e Métodos
6. Resultados – apresentação dos resultados desse estudo no formato de três artigos originais:

   Artigo Original 1: **Resposta biomecânica do fêmur de ratos *Wistar* submetidos à natação sem sobrecarga**– teve como objetivo avaliar o efeito de um protocolo de natação sem sobrecarga sobre as propriedades biomecânicas de fêmures de ratos *Wistar*. Foi submetido ao periódico ***Revista Brasileira de Medicina do Esporte*** Conceito A2 na área 21 da CAPES.

   Artigo Original 2: **Comportamento biomecânico do fêmur de ratos diabéticos submetidos a duas modalidades de exercício aquático** – teve como objetivo comparar os efeitos de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga com os efeitos de um protocolo de exercício resistido de salto livre com sobrecarga sobre a resposta biomecânica de fêmures de ratos induzidos quimicamente ao diabetes experimental. Será submetido ao periódico ***Journal of Diabetes and its Complications***, Conceito A2 na área 21 da CAPES.

   Artigo Original 3: **Estudo comparativo da ação de duas modalidades de exercício aquático sobre o déficit ósseo de ratos diabéticos** – teve como objetivo comparar o efeito de duas modalidades de exercício em meio aquático (natação e exercício resistido de salto livre com sobrecarga) sobre o déficit na estrutura óssea de ratos induzidos experimentalmente ao diabetes. Será submetido ao periódico ***Journal of Bone and Mineral Research***, Conceito A1 na área 21 da CAPES.
7. Limitações do Estudo.
8. Considerações Finais.
9. Anexos
10. Apêndices

2. INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* (DM) é uma desordem metabólica que se caracteriza pela deficiência absoluta ou relativa de insulina, e está associado a uma extensa lista de complicações crônicas envolvendo quase todos os tecidos do corpo (GOODMAN; HORI, 1984; MACEY *et al*., 1989; KATAYAMA *et al*., 1996; VERHAEGUE *et al*., 2000; BROTMAN; GIROD, 2002; FOLLAK *et al*., 2004; PRISBY *et al*., 2008; MOTYL; MCCABE, 2009).

As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos, visto que o estado de hiperglicemia provoca, a médio e longo prazo, alterações microvasculares que levam à diminuição do aporte sanguíneo dos tecidos, diminuindo assim a perfusão de oxigênio e ocasionando complicações crônicas como nefropatias, retinopatias, neuropatias, artropatia de Charcot, doença arterial coronariana e manifestações de disfunções autonômicas, dentre outras (GROSS; NEHME, 1999; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). No entanto, sabe-se que também estão presentes alterações no aparelho locomotor que podem contribuir para um declínio do estado geral de saúde dos indivíduos diabéticos (AKTURK *et al*., 2002; AKTURK *et al*., 2007).

Dentre as alterações musculoesqueléticas secundárias ao diabetes, há evidências de que o tecido ósseo pode sofrer prejuízos na sua massa óssea, assim com alterações no processo de osteogênese na remodelação de uma fratura (MAINARDES *et al.*, 2007). A osteopenia é resultado da falha no controle das anormalidades metabólicas e, no diabetes, o grau de perda óssea está relacionado à intensidade da glicosúria, da concentração da glicemia e da hemoglobina glicada (McNAIR *et al.*, 1979; MANCINI *et al.*, 2000).

A associação entre baixa densidade mineral óssea (DMO) e diabetes tipo 1 já está determinada com consistência (LOPEZ-IBARRA *et al*., 2001; ZHANG *et al*., 2009), visto que tem sido relatada em vários estudos clínicos com humanos (BOUILLON, 1991; FORSÉN, 1999; NICODEMUS; FOLSON, 2001; MIAO *et al*., 2005; AHMED *et al*., 2006; MIAZGOWSKI *et al*., 2007) e em estudos experimentais com animais (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1991, 1993; REDDY *et al*., 2001).

No entanto, além das repercussões sobre a massa óssea, estudos têm mostrado que o diabetes interfere na formação da rede de colágeno, afetando portanto, a integridade biomecânica do osso, gerando assim, ossos mais frágeis e com risco de fratura aumentado (DIXIT; EKSTROM, 1980; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; REDDY *et al*., 2001; FOLLAK *et al*., 2004; PRISBY *et al*., 2008; ZHANG *et al*., 2009; KORRES *et al*., 2013).

Inúmeros estudos com ratos espontaneamente diabéticos ou induzidos pela estreptozotocina, avaliando as propriedades biomecânicas através de ensaios mecânicos, demonstraram diminuição da força óssea e alterações em outras propriedades biomecânicas, o que pode contribuir para o alto risco de fratura associado ao DM (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1993; MATTILA; KNUUTTILA; SVANBERG, 1998; REDDY *et al*., 2001; FOLLAK *et al*., 2004; PRISBY *et al*., 2008; ZHANG *et al*., 2009).

A integridade biomecânica alterada de ossos diabéticos pode se relacionar à formação defeituosa da rede de matriz extracelular que ocorre no diabetes, por aumento da glicação do colágeno resultante dos estados de hiperglicemia, além de mudanças metabólicas como distúrbios na produção de insulina e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), resultando em ossos biomecanicamente mais propensos a falha quando submetidos à sobrecargas (REDDY *et al*., 2001; SCHWARTZ, 2003; ODETTI *et al*., 2005; YAMAGISHI; NAKAMURA; INOUE, 2005; HEIN *et al*., 2006, VESTERGAARD, 2007).

Para um tratamento bem sucedido do diabetes preconiza-se a associação do exercício físico regular, juntamente com a insulinoterapia e o planejamento alimentar (DE ANGELIS *et al*., 2006; ZISSER *et al*., 2011). Sabe-se que o exercício físico pode facilitar a captação periférica da glicose e o metabolismo de glicogênio e proteínas, regulando e melhorando as condições gerais de saúde de indivíduos diabéticos (LUCIANO; MELLO, 1998; OLIVEIRA; ROGATTO; LUCIANO, 2002).

No caso do tecido ósseo, a carga mecânica, resultante do exercício físico, é essencial ao desenvolvimento esquelético assim como pode promover remodelamento da estrutura óssea após a maturidade (NIEHOFF *et al*., 2004). Alguns estudos clínicos demonstraram que o diabetes mal controlado pode estar associado ao retardo no crescimento e à formação óssea diminuída, visto as alterações metabólicas do diabetes incluem modificações na síntese e liberação do

hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) (VERHAEGUE *et al*., 2000; GOMES *et al*., 2006) . Neste contexto, o exercício físico representa um estímulo contrário aos efeitos deletérios do diabetes, pois há evidências de que o exercício pode estimular a produção muscular local de IGF-1, mesmo na ausência de GH (HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1993; GOMES *et al*., 2006).

Sabe-se que a carga proveniente do exercício físico pode ser causada por forças gravitacionais ou por contrações musculares (RENNO *et al*., 2007) e que a osteogênese pode ser estimulada por pequenas deformações na arquitetura óssea, provocadas por forças mecânicas, que pode atuar diretamente na taxa de remodelamento ósseo (BIKLE *et al*., 2003). Nesse contexto, diferentes modelos de exercício podem causar diferentes adaptações no tecido ósseo, pois as respostas ósseas vão ser afetadas pelas características específicas de cada modalidade (AGUIAR *et al*., 2010).

A sustentação de peso é um dos fatores mais importantes para influenciar a formação e reabsorção óssea (KUNG; NG, 1994; HEINONEN *et al*., 2000), porém há evidências de que exercícios que não utilizam sustentação de peso, como a natação (SNYDER *et al*., 1992; TSUKAHARA *et al.*, 1994), também poderiam beneficiar a osteogênese através do trabalho de contração muscular, promovendo adaptação positiva na massa óssea (BOURRIN *et al*., 1995; HART *et al*., 2001).

Até o presente momento, há evidências consistentes que apontam os efeitos deletérios que o diabetes por exercer sobre o tecido ósseo. No entanto, a influência terapêutica de diferentes modalidades de exercício sobre estas alterações ainda permanecem mal compreendidas, e há ausência de evidências a respeito da influência de modalidades de exercício aquático sobre o déficit biomecânico observado em ossos de diabéticos. Assim, a proposta do presente estudo foi avaliar e comparar o efeito de duas modalidades de exercício em meio aquático, sobre o déficit na estrutura óssea e sobre as alterações clínicas e metabólicas em ratos induzidos quimicamente ao diabetes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Diabetes *Mellitus* (DM)

O diabetes *mellitus* (DM) é uma síndrome metabólica caracterizada por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção e/ou na ação da insulina. A hiperglicemia decorrente do diabetes está associada, em longo prazo, a danos, disfunções e insuficiência em diferentes órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). No entanto, sabe-se que também estão presentes alterações nas estruturas constituintes do aparelho locomotor que podem contribuir para um declínio do estado geral de saúde dos indivíduos diabéticos (AKTURK *et al*., 2002; AKTURK *et al*., 2007).

O DM configura-se hoje como uma epidemia mundial, traduzindo-se em grande desafio para os sistemas de saúde de todo o mundo. Segundo dados da *International Diabetes Federation* (IDF) há cerca de 382 milhões de diabéticos no mundo, e estima-se que em 2035 haverá cerca de 592 milhões de pessoas com diabetes, um aumento correspondente a 55% (*INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION*, 2013).

3.2. Diabetes e o déficit na estrutura óssea

No tecido ósseo o DM pode ocasionar osteopenia e alterar o processo de osteogênese, por exemplo, na remodelação de uma fratura (MAINARDES *et al.*, 2007). A osteopenia é resultado da falha no controle das anormalidades metabólicas e, no diabetes, o grau de perda óssea está relacionado à intensidade da glicosúria, das concentrações da glicemia e da hemoglobina glicada (McNAIR *et al.*, 1979; MANCINI *et al.*, 2000).

Em 1948, Albright e Reifenstein forem os primeiros a relatarem a presença de baixa densidade mineral óssea (DMO) e risco aumentado de fratura em diabéticos (ZHANG *et al*., 2009). A associação entre baixa DMO e diabetes tipo 1 já está bastante elucidada (LOPEZ-IBARRA *et al*., 2001; ZHANG *et al*., 2009), tendo em vista que foi descrita em vários estudos clínicos com humanos (BOUILLON, 1991; FORSÉN, 1999; NICODEMUS; FOLSON, 2001; MIAO *et al*., 2005; AHMED *et al*., 2006; MIAZGOWSKI *et al*., 2007) e em estudos experimentais com animais (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1991, 1993; REDDY *et al*., 2001; MOTYL; MCCABE, 2009).

Por outro lado, a baixa qualidade do osso diabético não pode ser detectada apenas pela diminuição da DMO (EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; REDDY *et al*., 2001). Segundo Reddy *et al*. (2001), a integridade biomecânica dos ossos é um dos fatores mais importantes relacionados com o risco de fratura.

Inúmeros estudos com ratos espontaneamente diabéticos ou induzidos pela estreptozotocina, avaliando as propriedades biomecânicas através de ensaios mecânicos, demonstraram diminuição da força óssea e alterações em outras propriedades biomecânicas, o que pode contribuir para o alto risco de fratura associado ao DM (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1993; MATTILA; KNUUTTILA; SVANBERG, 1998; REDDY *et al*., 2001; FOLLAK *et al*., 2004; PRISBY *et al*., 2008; ZHANG *et al*., 2009).

Há várias razões que podem contribuir para o acometimento ósseo no diabetes. Estudos *in vitro* têm mostrado que a hiperglicemia induz perda óssea por promover apoptose de osteoblastos e inibir a expressão de calcitonina, um marcador de diferenciação tardia de osteoblastos e mineralização (VERHAEGHE *et al*., 1992; GOPALAKRISHNAN *et al*., 2006).

Vestergaard (2007), em uma meta-análise, mostrou que complicações do diabetes como a nefropatia diabética podem explicar o aumento do risco de fratura. O aumento na creatinina sérica, indicador de comprometimento da função renal, pode influenciar a redução da força óssea. A disfunção renal também pode contribuir para reduzir a absorção de cálcio e fósforo, assim como aumentar a excreção destes, resultando em insuficiência de cálcio. Além disso, a acidose resultante da falha renal contribui para osteólise e perda óssea.

Em relação aos mecanismos que levam a uma competência biomecânica reduzida além de diminuição na DMO, vários estudos têm apontado o acúmulo de produtos finais da glicação avançada (AGEs) no colágeno ósseo como um dos fatores responsáveis por aumentar a fragilidade óssea em diabéticos (HEIN *et al*., 2003; SCHWARTZ, 2003; YAMAGISHI; NAKAMURA; INOUE, 2005; HEIN *et al*., 2006; KORRES *et al*., 2013). Os AGEs são formados através de uma série de reações não enzimáticas entre a glicose e proteínas (SCHWARTZ, 2003), e desempenham um papel importante no metabolismo ósseo e força óssea (HEIN *et al*., 2003; YAMAGISHI; NAKAMURA; INOUE, 2005; HEIN *et al*., 2006).

3.3. Diabetes, Osso e Exercício Físico

O exercício físico regular, juntamente com a insulinoterapia e o planejamento alimentar, tem sido considerado como uma das três principais abordagens no tratamento do DM tipo 1 (DE ANGELIS *et al*., 2006; ZISSER *et al*., 2011). O tratamento tem como objetivo aproximar as condições metabólicas do indivíduo com DM tipo 1 de um estado fisiológico normal, consequentemente prevenindo ou retardando as complicações crônicas do DM (DE ANGELIS *et al*., 2006).

Alguns trabalhos têm demonstrado que o exercício físico regula e melhora as condições do diabetes, facilitando a captação periférica da glicose e o metabolismo de glicogênio e proteínas (LUCIANO; MELLO, 1998; OLIVEIRA; ROGATTO; LUCIANO, 2002). Um dos mecanismos relacionados a esta condição de regulação metabólica está relacionado ao fato do músculo ser responsável por 30% do consumo glicêmico corporal, além de estimular o transporte de glicose pelo GLUT-4, mesmo na ausência da insulina, promovendo uma maior captação e metabolização da glicose disponível no organismo (PAULI *et al*., 2009). Além disso, há evidências de que o exercício seja importante no aumento do conteúdo insulínico, promovendo uma maior secreção deste hormônio em ilhotas pancreáticas isoladas em diabéticos do tipo 1 (HUANG *et al*., 2011).

No caso do tecido ósseo, sabe-se que a principal função do esqueleto é dar apoio aos músculos para permitir a postura e o movimento no espaço, e para que haja um bom desempenho nas atividades diárias é necessário que o tecido ósseo apresente-se hígido reduzindo a probabilidade da ocorrência de fraturas (RUSSO, 2009). Neste sentido, a osteogênese pode ser estimulada por pequenas deformações na arquitetura óssea, provocadas por forças mecânicas aplicadas durante a atividade física normal, que pode atuar diretamente na taxa de remodelamento ósseo (BIKLE *et al*., 2003) e que diferentes modelos de exercício podem causar diferentes adaptações no tecido ósseo, visto que as respostas ósseas vão ser afetadas por volume de treinamento, número de séries e repetições, período de descanso entre as séries, e o tipo de contração muscular (AGUIAR *et al*., 2010).

A carga proveniente do exercício físico pode ser causada por forças gravitacionais ou por contrações musculares (RENNO *et al*., 2007). Nesse sentido, atividades que produzem maiores estímulos ao tecido ósseo têm-se mostrado eficientes em estimular o aumento da DMO (ANDREOLI *et al*., 2001; KELLEY; KELLEY; TRAN, 2001; KELLEY; KELLEY, 2004), como o treinamento resistido, o

qual consiste em uma atividade voltada para o desenvolvimento das funções musculares através da aplicação de sobrecargas (KELLEY; KELLEY; TRAN, 2001; KELLEY; KELLEY, 2004).

Por outro lado, embora a sustentação de peso seja um dos fatores mais importantes para influenciar a formação e reabsorção óssea, há evidências de que exercícios que não utilizam sustentação de peso, como a natação, também poderiam beneficiar a osteogênese (BOURRIN *et al*., 1995; HART *et* al., 2001).

Snyder *et al*. (1992) compararam os efeitos de um programa de corrida e de um treinamento de natação e observaram que os ratos submetidos à natação demonstravam maior conteúdo mineral ósseo do que os corredores. Já Renno *et al*. (2007) utilizaram um programa de saltos com carga progressiva em meio aquático em ratas osteoporóticas e obtiveram melhora na DMO e nas propriedades físicas e geométricas (área transversal, a área medular e os diâmetros interno e externo) dos ossos estudados. Em concordância a estes achados Tsukahara *et al.* (1994) sugerem que a prática de esportes aquáticos é um fator importante na prevenção da perda de material ósseo, porque, mesmo não havendo a força gravitacional como no treinamento resistido, somente o trabalho de contração muscular poderia estar contribuindo para alterações da massa óssea.

Dessa forma, apesar dos efeitos deletérios do DM sobre o tecido ósseo já estarem bem determinados, a influência de diferentes modalidades de exercício sobre estas alterações ainda permanecem mal compreendidas. Mais especificamente, a influência de modalidades de exercício aquático sobre o déficit biomecânico observado em ossos de diabéticos não foi explorada até o presente momento. Assim, a proposta do presente estudo foi avaliar e comparar o efeito de duas modalidades de exercício em meio aquático, sobre o déficit na estrutura óssea e sobre as alterações clínicas e metabólicas em ratos diabéticos tipo 1.

4. HIPÓTESES

- O exercício de resistência de salto livre com sobrecarga é capaz de atenuar em longo prazo, a perda de massa óssea e as alterações mecânicas dos fêmures de ratos com diabetes experimental quando comparado ao exercício aeróbio de natação.

- O exercício aeróbio de natação e o exercício resistido de salto livre com sobrecarga são capazes de minimizar as alterações dos parâmetros clínicos e metabólicos de ratos com diabetes experimental.

5. OBJETIVOS

5.1. Geral

Comparar os efeitos de dois tipos de exercício físico em meio aquático (exercício aeróbio de natação e exercício de resistência de salto livre com sobrecarga) sobre o déficit na estrutura óssea e sobre as alterações nos parâmetros clínicos e metabólicos em ratos com diabetes tipo 1.

5.2. Específicos

- Avaliar a evolução dos parâmetros clínicos e metabólicos de ratos diabéticos submetidos ao exercício aeróbio de natação e ao exercício de resistência de salto livre com sobrecarga por meio da aferição do peso corporal, da ingestão hídrica e alimentar, da diurese e dos níveis glicêmicos nos animais.

- Avaliar estesiologicamante os fêmures dos modelos experimentais induzidos ao DM e submetidos ao exercício aeróbio de natação e ao exercício de resistência de salto livre com sobrecarga através da aferição do peso e do comprimento destes ossos.

- Avaliar a integridade do tecido ósseo de ratos diabéticos submetidos ao exercício aeróbio de natação e ao exercício de resistência de salto livre com sobrecarga através das medidas da densidade óssea e das propriedades mecânicas do fêmur (módulo elástico, força máxima, tensão máxima e deformação máxima) através do ensaio mecânico de flexão em três pontos.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo do tipo experimental, com avaliação quantitativa dos dados amostrais.

6.2. Local do Estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (Depto de Anatomia – UFPE), no Laboratório de Engenharia de Materiais (Depto de Engenharia de Materiais – UFCG) e no Laboratório de Radiologia Odontológica (Depto de Odontologia Clínica e Preventiva – UFPE).

6.3. Amostra

A amostra foi composta por 108 ratos machos da raça *Rattus Novergicus Albinus*, da linhagem *Wistar*, mantidos em gaiolas de polipropileno (41x34x16 cm) em grupos de três a quatro animais e submetidos a ciclos claro/escuro invertido de 12 horas e temperatura de 23° ± 1°C. Os ratos receberam uma dieta através de ração apropriada (Labina® - Purina) e água *ad libitum.* O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (Processo n° 23076.026692/2012-80 - Anexo A).

6.4. Grupos Experimentais

Aos 60 dias de vida, os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos (Figura 1): a) Grupo Controle Sedentário – GCS (n=18) constituído por ratos sadios e sedentários; b) Grupo Controle Natação – GCN (n=18) constituído por ratos sadios e que realizaram exercício de natação; c) Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR (n=18) constituído de ratos saudáveis e que realizaram exercício de salto livre com sobrecarga; d) Grupo Diabético Sedentário– GDS (n=18) constituído com ratos diabéticos e sedentários; e) Grupo Diabético Natação – GDN (n=18) constituído por ratos diabéticos e que realizaram exercício de natação; e f) Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR (n=18) constituído por ratos diabéticos e que realizaram exercício de salto livre com sobrecarga.

6.5. Indução ao Diabetes

Os animais dos grupos GDS, GDN e GDTR, após jejum de 12 horas, foram induzidos ao diabetes pela administração única, via intraperitoneal, de uma solução de Estreptozotocina (*STZ – Sigma Chemical Co., St. Louis, MO*) (Figura 2), diluída em tampão citrato de sódio a 10 mM e pH 4,5, na dose de 60 mg/kg de peso do animal. Os animais não diabéticos receberam doses equivalentes da solução tampão citrato de sódio objetivando o nivelamento do estresse físico ofertado para os grupos diabéticos. Ao final de 30 minutos após o tratamento os animais foram alimentados normalmente (DALL'AGO *et al*., 2002).

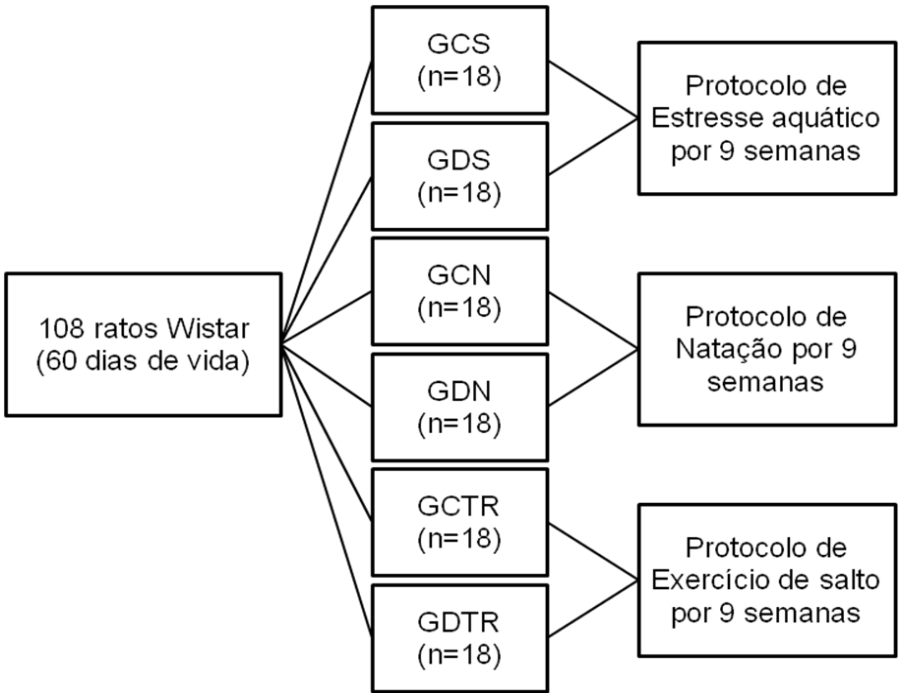


Figura 1 - Fluxograma de formação dos Grupos Experimentais ao logo da pesquisa.
GDS - Grupo Controle Sedentário; GDS - Grupo Diabético Sedentário; GCN - Grupo Controle Natação; GDN - Grupo Diabético Natação; GCTR - Grupo Controle Treino de Resistência; GDTR - Grupo Diabético Treino de Resistência

Figura 2 – Procedimento de indução química do diabetes experimental com solução única de Estreptozotocina, através de injeção via intraperitoneal.

6.6. Avaliação clínica e metabólica

O peso corpóreo dos animais foi aferido semanalmente ao longo de todo o experimento utilizando a balança MARTE, modelo ASF11. A verificação da glicose sanguínea (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active) aconteceu após jejum de 12 horas, antes da indução ao diabetes, no 3º e 7º dias após a indução, e, após a confirmação do diabetes, semanalmente até o fim do experimento. Foram incluídos no estudo apenas animais que apresentarem glicose sanguínea acima de 200mg/dL (CARVALHO; CARVALHO; FERREIRA, 2003). A glicose sanguínea foi dosada (tiras reagentes Accu-Chek Active) após coleta de uma gota de sangue na ponta da cauda do animal.

Cinco animais, de cada grupo experimental foram colocados em gaiolas metabólicas (Tecniplast 3701M081) (Figura 3) em três momentos distintos: na semana pré-indução, na semana pós-indução e ao final do período referente ao exercício físico. Em cada um destes momentos Foram realizados os registros da ingestão hídrica (mL), ingestão alimentar (g) e diurese (mL) a cada 24 horas, por um período de 72 horas.

Figura 3 – Gaiola Metabólica própria para ratos (Tecniplast 3701M081), (a) mamadeira para água; (b) Câmara de alimentação; (c) Funil coletor de fezes e urina.

6.7. Exercício Físico

Após a indução do diabetes experimental, os animais dos grupos treinados, dependendo do grupo ao qual pertencessem, foram submetidos a dois protocolos de exercício em meio aquáticos: natação e exercício de resistência de salto. Os animais dos grupos sedentários foram colocados na própria gaiola com uma pequena quantidade de água na mesma temperatura, por uma hora, cinco dias por semana, durante nove semanas para se submeterem a um estresse aquático semelhante. Os animais dos grupos de exercício, após seus respectivos protocolos, e os animais sedentários após passarem pelo estresse aquático, foram secados com toalhas e em seguida acondicionados a uma câmara de aquecimento por 20 minutos.

6.7.1. **Natação:** Uma semana após a indução os animais iniciaram o exercício de natação que teve a duração de nove semanas, uma hora/dia, cinco dias/semana (NAKAO *et al*., 2000). Não foi utilizada nenhuma sobrecarga adicional durante o exercício, caracterizando um exercício de intensidade baixa (GOBATTO *et al*., 2001; FREITAS *et al*., 2010). A primeira semana foi de adaptação, onde os grupos treinados foram inicialmente ambientados ao meio líquido, começando com 10 minutos de nado e acrescentando 10 minutos por dia até completar 50 minutos/dia. O exercício foi realizado em um tanque cilíndrico com 85 cm de comprimento e 50 cm de diâmetro (Figura 4), com temperatura da água mantida em 32º ±1 C.

Figura 4 – (A) Demonstração do exercício de natação; (B) Tanque para exercício de natação.

6.7.2. **Exercício de Resistência:** Uma semana após a indução os animais realizaram um programa de exercício de resistência de alta intensidade (ROGATTO; LUCIANO, 2001) com duração de nove semanas e frequência de cinco sessões semanais, que consistiu na realização de saltos em um tanque cilíndrico com 20 cm de diâmetro e 70 cm de comprimento (Figura 5). Para este exercío uma sobrecarga era acoplada ao tórax do animal através de um colete. Para ajuste da sobrecarga a ser utilizada por cada animal, os animais foram pesados no primeiro dia de cada semana e a partir daí era calculada a sobrecarga individual para cada animal. A primeira semana do protocolo foi destinada a adaptação dos animais, onde eles fizeram inicialmente três séries de 10 saltos com um minuto de intervalo entre as séries, inicialmente com carga de 30% do peso corporal nos dois primeiros dias da semana, 40% no terceiro e quarto dia, e 50% do peso corporal no quinto dia da semana. A profundidade da água também foi sendo aumentada progressivamente, iniciando com 100% do comprimento dos animais no primeiro dia, 120% no segundo e terceiro dia, e 140% no quarto e quinto dia da semana. A partir da segunda semana, as sessões de exercício consistiram na realização de quatro séries de 10 saltos com sobrecarga equivalente a 50% do peso corpóreo, com um minuto de intervalo entre as séries (ROGATTO; LUCIANO, 2001) e com a profundidade da água correspondendo a 140% do comprimento corporal do rato (ROGATTO; LUCIANO, 2001; ROGATTO, 2001). A temperatura da água foi mantida a 32º ±1 C.

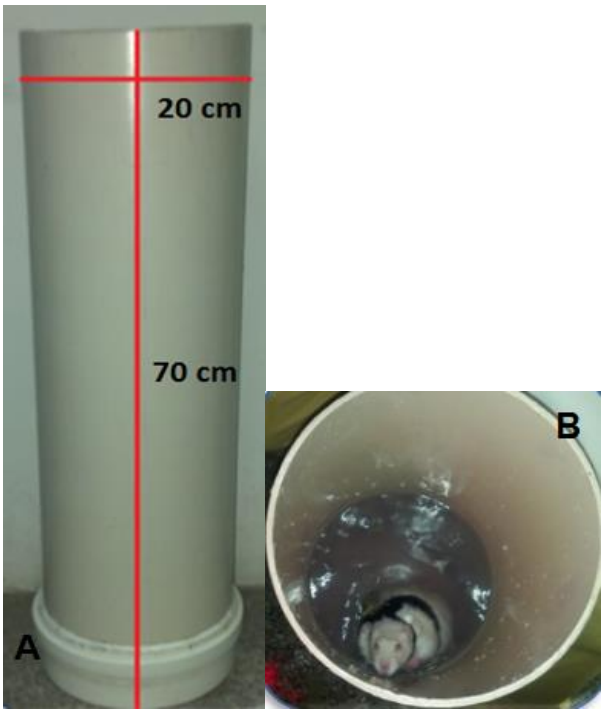


Figura 5 – (A) Tanque para exercício de salto em meio aquático; (B) Demonstração do exercício de salto.

6.8. Eutanásia e Coleta do Material

Após o término do período referente ao exercício, os animais de todos os grupos foram anestesiados com solução de Xilazina (Rompum® - Bayer) (10 mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Ketalar®) (25mg/kg), 0,10 ml para cada 100g de peso e tiveram seus fêmures direito e esquerdo desarticulados, dissecados, pesados em uma balança de precisão (BS3000A), e foram feitas mensurações do comprimento dos ossos com auxílio de um paquímetro (Vernier Calipers, 0,01 mm). Em seguida os ossos foram estocados em formol a 10% até o momento das análises densitométrica e biomecânica. O fêmur direito foi encaminhado para a análise densitométrica, enquanto que o fêmur esquerdo foi encaminhado ao ensaio mecânico.

6.9. Análise Densitométrica do Fêmur

A análise densitométrica foi realizada através de tomadas radiográficas dos fêmures direitos dos ratos de todos os grupos com o aparelho de raio-X Spectro 1070 (Dabi Atlante) (Figura 6) com regime elétrico de 70 Kvp e 10 mA. O tempo de exposição utilizado foi de 0,3 segundos e a distância foco-filme foi de 30 cm. As

imagens foram captadas por sensores do tipo placas de fósforo, e digitalizadas utilizando o sistema digital Digora Optime®. Os valores de pixels foram convertidos para valores de espessura em milímetros de alumínio (mm/Al) utilizando o software Image J (LOUZADA *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2009).

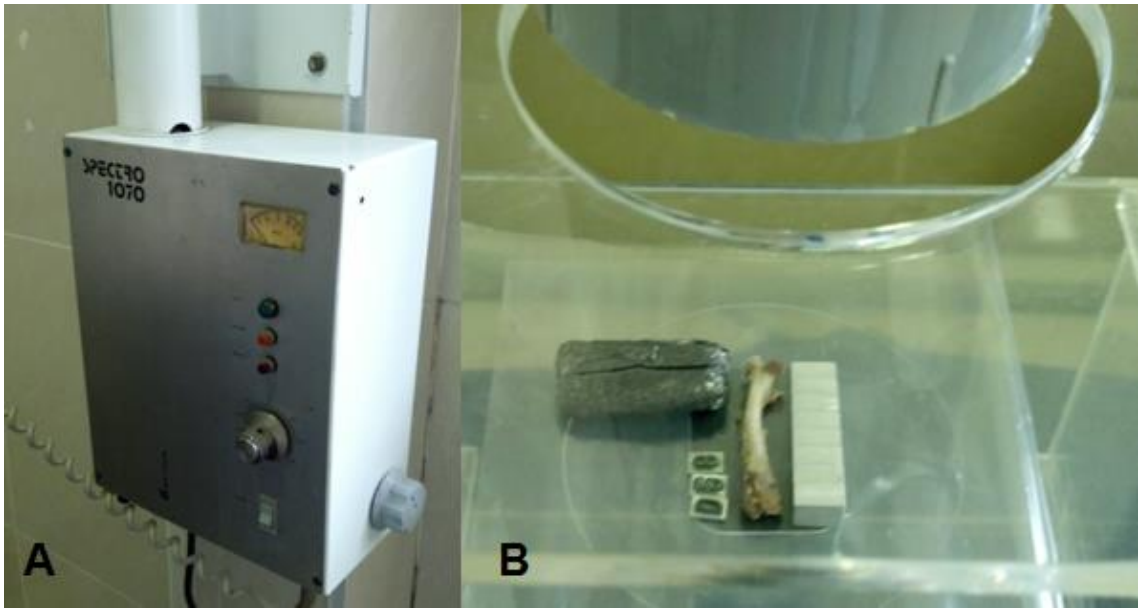


Figura 6 – (A) Aparelho de raio-X Spectro 1070; (B) Disposição do fêmur no momento da tomada radiográfica.

6.10. Ensaio Mecânico do Fêmur

O fêmur esquerdo foi colocado na máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X (Figura 7), com célula de carga de 50KN, da seguinte maneira: a superfície anterior do fêmur foi posta em contato com os pinos de apoio da máquina, distanciados de 20 mm (HUANG *et al.*, 2003); o pino de carga foi posicionado no meio da diáfise do fêmur. O módulo de ruptura à flexão foi determinado pelo ensaio de flexão em três pontos nas condições de temperatura ambiente e com velocidade de 0,5 mm/min. O deslocamento do espécime foi registrado automaticamente por um software acoplado à máquina de ensaio e os parâmetros estudados foram Módulo Elástico (MPa), Tensão Máxima (MPa), Força Máxima (N) e Deformação Máxima (%).

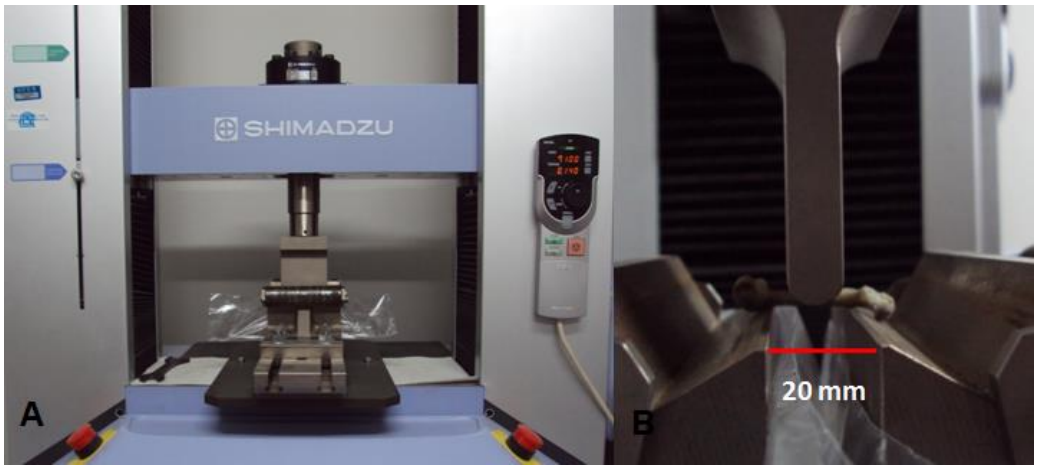


Figura 7 – (A) Máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X; (B) Fêmur posicionado na máquina de ensaio de flexão em três pontos.

6.11. Análise Estatística

Com os dados obtidos foi construído um banco de dados e posteriormente analisados através do software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0. Após a confirmação da normalidade pelo teste de Kolmgorov-Smirnov, foi utilizado o teste *t* Student para comparação entre dois grupos. Para comparação entre três ou mais grupos, foi empregada a Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo *post hoc* Bonferroni, a fim de identificar que grupos diferiram entre si. O nível de significância adotado foi 5%.

7. RESULTADOS

7.1. Artigo Original 1

Artigo Original

RESPOSTA BIOMECÂNICA DO FÊMUR DE RATOS *WISTAR* SUBMETIDOS À NATAÇÃO SEM SOBRECARGA

BIOMECHANICAL FEMORAL RESPONSE IN WISTAR RATS SUBJECTED TO SWIMMING WITHOUT OVERLOAD

Patrícia Verçoza de Castro Silveira[1], Gabriel Nunes de Mesquita[2], Márcio Almeida Bezerra[3], Cybelle da Silva Nery[4], Ana Camila Nobre de Lacerda Brito[2], Marcos Paulo Galdino Coutinho[1], Izabelle Marie Trindade Bezerra[5] and Sílvia Regina Arruda de Moraes[6]

[1] Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;
[2] Graduado em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;
[3] Docente do Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, Brasil;
[4] Doutoranda em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Recife – Pernambuco, Brasil;
[5] Docente do Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – Paraíba, Brasil;
[6] Docente do Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil.

Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a eficácia de um protocolo de natação sem sobrecarga sobre a resposta biomecânica do fêmur de ratos *Wistar*. 36 ratos machos forma divididos em dois grupos: grupo controle (GC, n=18) e grupo treinado (GT, n=18). Os animais do GT realizaram um protocol de natação sem sobrecarga com duração de nove semanas. Ao final deste período, os animais foram eutanasiados e os fêmures esquerdos foram coletados, tiveram seus pesos e comprimentos mensurados, e foram encaminhados ao ensaio mecânico de flexão em três pontos. Foram analisados o Módulo Elástico (MPa), a Tensão Máxima (MPa), a Força Máxima (N) e a Deformação Máxima (%). Não foram observadas diferenças entre os grupos nos pesos corpóreos iniciais e finais dos animais, assim como nos pesos e comprimentos dos fêmures. O módulo elástico (MPa) foi maior nos animais treinados (9886,24 ± 1361,72 MPa) comparados aos animais controles (8394,97 ± 2178,67 MPa). Os demais parâmetros não diferiram entre os grupos. O protocol de natação usado no presente estudo promoveu um aumento do modulo elástico dos ossos avaliados, sugerindo que este tipo de exercício foi suficiente para exercer uma adaptação biomecânica positiva na estrutura óssea. **Palavras-chave:** Tecido ósseo, exercício, biomecânica

Abstract

This study aimed to evaluate the effectiveness of a swimming protocol without overload on biomechanical femoral response of wistar rats. 36 male rats were divided into two groups: control group (CG, n=18) and a training group (TG, n=18). Animals in TG performed a swimming protocol without overload lasting nine weeks. At the end of this period, the animals were euthanized and the left femurs were collected, weight and length of the bones were measured, and these were referred to mechanical three-point bending testing. Elastic Modulus (MPa), Maximum Stress (MPa), Maximum Strength (N) and Maximum Strain (%) were analyzed. No differences between groups were observed in the initial and final body weights of the animals, as well as the weights and lengths of femurs. The elastic modulus (MPa) was higher in trained animals (9886.24 ± 1361.72 MPa) compared to control animals (8394.97 ± 2178.67 MPa). The other parameters did not differ between groups. The swimming protocol used in this study promoted an increase of the elastic modulus of evaluated bones, suggesting that this type of exercise was sufficient to promote a positive biomechanical adaptation in bone structure. **Key-words:** Bone tissue, exercise, biomechanics

INTRODUÇÃO

Para o bom desempenho das atividades diárias é necessário que o tecido ósseo apresente-se hígido reduzindo a probabilidade da ocorrência de fraturas[1]. Para tanto, em condições normais, os ossos necessitam estar em constante processo de formação e reabsorção óssea[2]. A osteogênese por sua vez pode ser estimulada por pequenas deformações na arquitetura óssea, induzidas por forças mecânicas aplicadas durante a atividade física normal, atuando diretamente na taxa de remodelamento ósseo[3]. Além disso, dependendo do tipo de carga recebida (compressão, tensão, flexão e torção), diferentes respostas adaptativas do tecido ósseo poderão ser observadas[4]. Em ossos curtos, como as vértebras e nas metáfises de ossos longos, a compressão e a tensão são as principais cargas suportadas, enquanto que a flexão e a torção são as principais cargas suportadas por diáfises de ossos longos e a resistência a estas cargas é criticamente dependente da distribuição do material ósseo[1].

Durante o exercício físico a carga que incide no tecido ósseo pode ser causada por descarga de peso e/ou por contrações musculares[5]. No entanto, para que o exercício tenha um efeito osteogênico, as cargas mecânicas aplicadas ao esqueleto precisam alcançar uma tensão efetiva mínima para promover respostas consideradas como adaptativas ao estresse mecânico[6,7]. Nesse sentido, atividades que produzem maiores estímulos ao tecido ósseo, como o treinamento resistido, têm-se mostrado mais eficientes em promover o aumento da densidade mineral óssea (DMO)[8,9]. Além disso, os estímulos mecânicos sobre o tecido ósseo refletem-se não apenas no aumento da DMO, mas também, em adaptações estruturais e funcionais, como tem sido demonstrado por estudos que avaliaram as propriedades biomecânicas de ossos de animais sujeitos a várias modalidades de exercício físico[4,5,10-15].

Por outro lado, embora a sustentação de peso seja um dos fatores mais importantes para influenciar a formação e reabsorção óssea[16,17] há evidências de que exercícios que não utilizam sustentação de peso, como a natação[18,19], também poderiam beneficiar a osteogênese através do trabalho de contração muscular, promovendo adaptação positiva na massa óssea[20,21].

Entretanto, ainda se sabe pouco a respeito do papel que o exercício de natação sem sobrecarga exerce sobre a resposta biomecânica da estrutura óssea de ratos jovens e saudáveis, visto que a maioria das evidências disponíveis são relativas a protocolos de natação com sobrecarga[12,22] e também a estudos com

natação sem sobrecarga em ratos idosos e em ratas ovariectomizadas[10,21]. Desta forma, este estudo se propôs a avaliar a eficácia de um protocolo de natação sem sobrecarga sobre a resposta biomecânica do fêmur de ratos *Wistar* através do ensaio mecânico de flexão em três pontos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 36 ratos *Wistar,* machos, mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em temperatura de 23 ± 1ºC, ciclo de luz invertido (12 h) e livre acesso à dieta (Labina® – Purina) e água. Os animais forma mantidos em gaiolas de polipropileno (41x34x16 cm) em grupos de três a quatro animais por gaiola. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE), ofício nº 23076.026692/2012-80, e seguiu as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Na idade de 60 dias os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo Controle – GC (n=18) e Grupo Treinado – GT (n=18). Os animais do GT realizaram um exercício de natação sem sobrecarga[23] com duração de nove semanas, uma hora/dia, cinco dias/semana, considerado como um exercício de baixa intensidade[24,25]. A primeira semana do protocolo de exercício foi destinada à adaptação dos animais ao meio aquático, começando com 10 minutos de nado, sendo acrescidos 10 minutos por dia até completar 50 minutos/dia. Da segunda semana em diante os animais nadaram 60 minutos/dia. O exercício foi realizado em um tanque cilíndrico com 85cm de comprimento, 50cm de largura e 40cm de profundidade, com temperatura da água mantida em 32º ±1 C. Os animais que não realizaram o exercício de natação foram mantidos separados em gaiolas com aproximadamente 4cm de água durante o mesmo período em que foi praticada a natação pelo grupo exercitado. Desta forma, foram submetidos indistintamente, ao mesmo tipo de estresse aquático sem, contudo, realizar o esforço físico. Após o nado os animais foram secados com toalhas e em seguida acondicionados a uma câmara de aquecimento por 20 minutos.

Ao término do período referente ao protocolo de natação os animais foram eutanasiados com solução de Xilazina (Rompum® - Bayer) (10mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Ketalar®) (25mg/kg), 0,10 ml para cada 100g de peso, infundidos por

via intraperitoneal. Em seguida os fêmures esquerdos foram desarticulados, pesados em uma balança de precisão (BS3000A), e tiveram seus comprimentos mensurados com auxílio de um paquímetro (Vernier Calipers, 0,01mm). Em seguida as amostras foram estocadas em formol a 10% e mantidas refrigeradas para posterior realização do ensaio mecânico de flexão em três pontos.

O ensaio mecânico foi realizado na máquina universal de ensaios Shimadzu Autograph AG-X, com célula de carga de 50KN, da seguinte maneira: a superfície anterior do fêmur foi posta em contato com os pinos de apoio da máquina, distanciados de 20 mm[12]; o pino de carga foi posicionado no meio da diáfise do fêmur. O módulo de ruptura à flexão foi determinado pelo ensaio de flexão em três pontos nas condições de temperatura ambiente e com velocidade de 0,5 mm/min. O deslocamento do espécime foi registrado automaticamente por um software acoplado à máquina de ensaio e os parâmetros estudados foram Módulo Elástico (MPa), Tensão Máxima (MPa), Força Máxima (N) e Deformação Máxima (%).

Para descrever as características da amostra foram utilizadas medidas descritivas, tais como: medida de tendência central (média) e dispersão (desvio padrão). Para comparação das médias das variáveis numéricas entre os vários tratamentos empregados foi utilizado o teste t *Student* para análise de amostra independente para comparação entre o grupo controle e grupo treinado. Os dados foram analisados no software SPSS versão 20 *(Statistical Package for Social Sciences)* e foi admitido 5% como nível de significância.

RESULTADOS

Não foram observadas diferenças entre os grupos nos pesos corpóreos iniciais (60 dias de vida) e finais (135 dias de vida) dos animais, assim como nos pesos e nos comprimentos dos fêmures (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios do peso corpóreo, do peso do fêmur e do comprimento do fêmur dos grupos estudados.

Variável	GC	GT	t *Student*
Peso corpóreo	224,61 ± 11,83	234,89 ± 18,14	p=0,520

inicial (g)			
Peso corpóreo final (g)	358,22 ± 35,69	361,78 ± 34,27	p=0,762
Peso do fêmur (g)	0,935 ± 0,059	0,936 ± 0,066	p=0,967
Comprimento do fêmur (cm)	3,780 ± 0,095	3,807 ± 0,097	p=0,401

Valores expressos em média ± desvio padrão. Teste t *Student* * p<0,05. GC – Grupo Controle; GT – Grupo Treinado

O Módulo Elástico (MPa) mostrou-se maior nos animais do GT em comparação aos animais controles. Os demais parâmetros não diferiram entre os grupos estudados (Figura 1).

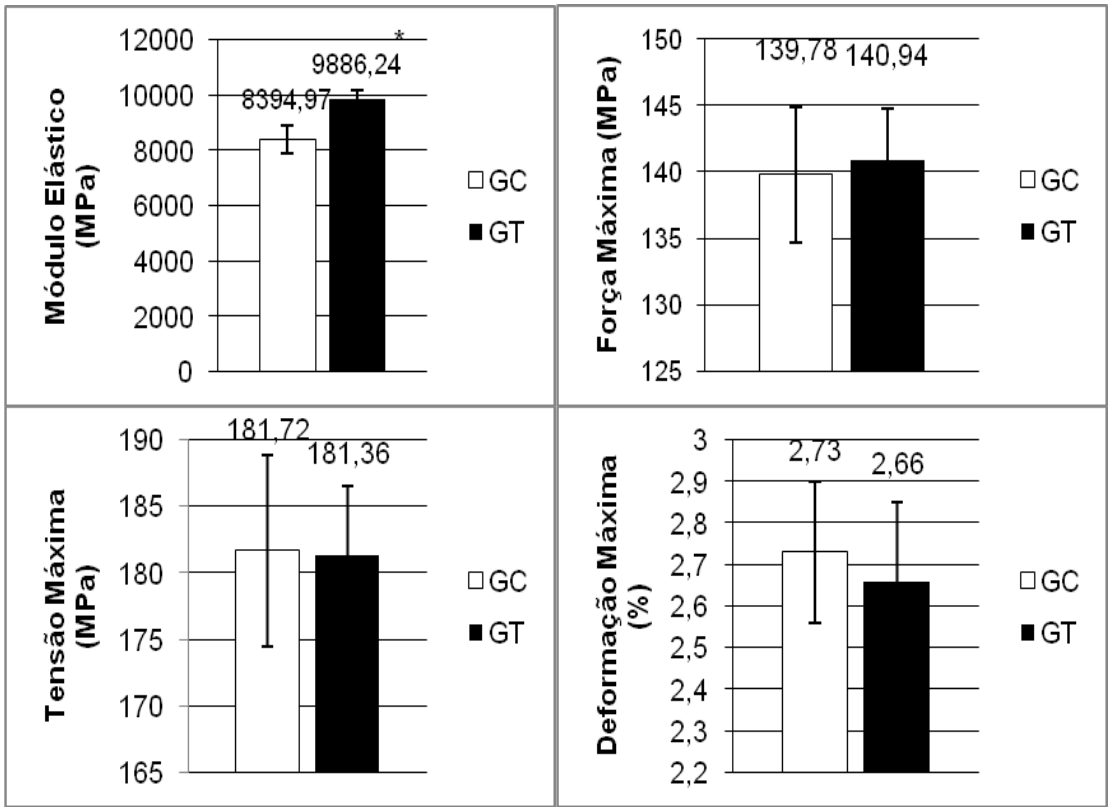


Figura 1. Efeito do exercício de natação sem sobrecarga sobre as propriedades biomecânicas do fêmur de ratos. Valores expressos em média ± desvio padrão. GC – Grupo Controle e GT – Grupo Treinado. Teste t *Student* *p<0,05.

DISCUSSÃO

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a eficácia do exercício de natação sem sobrecarga sobre as possíveis adaptações biomecânicas de fêmures de ratos *Wistar*, apresentando como principal resultado o aumento do módulo elástico, representando maior rigidez óssea, sem demonstrar alterações na demais propriedades biomecânicas ou nas variáveis antropométricas dos fêmures dos animais treinados.

O estudo de Swissa-Sivan et al. (1989)[22] avaliou o efeito da natação com sobrecarga (intensidade moderada) e sem sobrecarga (baixa intensidade) sobre o crescimento e desenvolvimento ósseo de ratas fêmeas jovens com idades de 5 semanas, verificando que em ambos os grupos treinados os animais apresentaram pesos corpóreos finais maiores que os controles, assim como maiores valores do comprimento e do peso dos ossos, divergindo dos achados do presente estudo. No entanto, neste caso a sobrecarga parece não ter sido determinante para promover as alterações antropométricas observadas nos animais treinados.

Além disso, é possível que a idade dos animais tenha influenciado os resultados divergentes encontrados no presente estudo. Segundo Turner; Takano; Owan (1995)[26] a capacidade plástica do esqueleto em responder a cargas mecânicas decresce com a idade; e os efeitos benéficos do exercício em influenciar mudanças no formato do osso podem ser mais efetivamente alcançados durante a fase de crescimento do esqueleto[27], o que pode explicar o fato dos ossos dos animais do estudo de Swissa-Sivan et al. (1989)[22] terem respondido aumentando seu peso e comprimento enquanto os animais do presente estudo, por serem adultos jovens, não apresentarem resposta semelhante. Com relação ao gênero, foi demonstrado que durante a fase de crescimento, apesar de apresentarem taxas de crescimento diferentes, a magnitude das respostas osteogênicas frente a estímulos de sobrecarga são semelhante em ambos os gêneros[27].

Por outro lado, o estudo de Huang *et al*. (2003)[12] utilizando um protocolo de natação com sobrecarga de oito semanas em ratos jovens com idades semelhantes aos usados no presente estudo, constatou uma redução no peso corpóreo final dos animais treinados em relação aos controles. Quanto ao peso e comprimento dos ossos, observou-se que os ossos dos animais treinados apresentaram maiores

pesos quando comparado aos animais controles, se opondo aos achados do presente estudo, não tendo observado, no entanto, diferenças nos comprimentos dos ossos avaliados, corroborando os nossos achados. Vale destacar que esse estudo utilizou um protocolo de natação com uma intensidade de treinamento maior do que a utilizada no presente estudo, o que pode ter influenciado os menores pesos corpóreos dos animais treinados, visto que de acordo com Chang *et al*. (2001)[28], a intensidade do exercício de endurance reduz o ganho de peso corporal de animais em crescimento.

A utilização de sobrecarga no estudo de Huang *et al.* (2003)[12] também pode ter sido responsável pelo maior peso dos ossos dos animais treinados, afinal representou um maior estímulo mecânico para os ossos destes animais e os efeitos estimulatórios sobre a estrutura óssea dependem amplamente da intensidade da carga a qual ela é submetida[8]. No entanto, o efeito da sobrecarga influenciando o peso de ossos, ainda é conflitante, visto que Swissa-Sivan et al. (1990)[29] utilizando um protocolo de natação também com sobrecarga em ratos adultos não constatou diferenças nos pesos e comprimentos dos animais treinados em relação aos controles.

Em relação às propriedades biomecânicas, de acordo com Jiang *et al*. (1999)[30], o Módulo Elástico do tecido ósseo depende amplamente de seu conteúdo mineral, ou seja, da DMO. Este parâmetro corresponde à rigidez do tecido ósseo, e uma maior rigidez pode ser interpretada como uma maior resistência do tecido à deformação quando submetido a uma determinada carga[1,21].

No presente estudo observou-se que os ossos dos animais treinados apresentaram maior Módulo Elástico quando comparados aos ossos dos animais controles. Em contrapartida, não foram detectadas diferenças significativas nos valores da Tensão Máxima, Força Máxima e Deformação Máxima entre os grupos estudados. Estes resultados podem ser apoiados pelos achados de Hart *et al*. (2001)[21], que avaliaram as propriedades mecânicas de ossos de ratas osteopênicas submetidas a natação sem sobrecarga, demonstrando resultados semelhantes aos nossos para o Módulo Elástico, Força Máxima e Tensão Máxima.

Por outro lado, os resultados do estudo de Huang *et al*. (2003)[12], utilizando um protocolo de natação com sobrecarga em ratos jovens, também confirmam nossos achados, visto que eles observaram aumento no Módulo Elástico de fêmures de ratos nadadores em relação aos ratos controles, além de não terem constatado

diferenças na Força Máxima dos ossos entre os animais treinados e controles. É interessante ressaltar que o nosso estudo, mesmo utilizando um treinamento sem sobrecarga, obteve adaptações benéficas na resposta biomecânica dos ossos avaliados.

Apesar do presente estudo não ter encontrado resultados significativos para a maioria dos parâmetros biomecânicos avaliados, o aumento do Módulo Elástico observado nos fêmures dos ratos treinados é um achado de grande relevância visto que este parâmetro representa a rigidez intrínseca do material e se relaciona da quantidade mineral do osso, ou seja, da densidade mineral óssea, e também de muitos outros fatores microestruturais, tais como o arranjo de cristal e fibras colágenas, a composição de colágeno e substância fundamental, microfraturas, dentre outros[30]. Desta forma, uma resposta adaptativa positiva neste parâmetro pode representar uma importante vantagem biomecânica para o osso, pois o mesmo passará a suportar uma maior tensão mecânica sofrendo menor deformação na sua estrutura, traduzindo-se assim, em melhora na sua resposta biomecânica.

CONCLUSÃO

O protocolo de natação sem sobrecarga utilizado no presente estudo promoveu aumento do Módulo Elástico dos ossos avaliados, representando maior rigidez óssea, sugerindo que esta modalidade de exercício exerceu estímulo suficiente para promover uma adaptação biomecânica positiva na estrutura óssea.

CONFLITO DE INTERESSES

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

AGRADECIMENTO

Ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

A FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pelo apoio financeiro ao Srta. Silveira.

Ao CNPq – Edital Universal – (nº 476815/2011-8) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Russo CR. The effects of exercise on bone. Basic concepts and implications for the prevention of fractures. Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. 2009; 6: 223-228.
2. Esteves ACF, Bizarria FS, Coutinho MPG, Barreto TKDP, Brasileiro-Santos MS, Moraes, SRA. A natação minimiza o retardo no crescimento somático e ósseo de ratos? Rev Bras Med Esporte. 2010; 16: 368-372.
3. Bikle DD, Sakata T, Halloran BP. The impact of skeletal unloading on bone formation. Gravit Space Biol Bull. 2003; 16: 45-54.
4. Aguiar AF, Agati LB, Müller SS, Pereira, OC, Silva MDP. Efeitos do treinamento físico sobre a resistência mecânica do terço proximal do fêmur de ratos. Acta Ortop Bras. 2010; 18: 245-249.
5. Renno ACM, Faganello FR, Moura FM, Santos NSA, Tirico RP, Bossini PS, et al. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. Acta Ortop Bras. 2007; 15: 276-279.
6. Frost HM. Vital biomechanics: proposed general concepts for skeletal adaptations to mechanical usage. Calcif Tissue Int. 1988; 42: 145-156.
7. Marcus R. Role of exercise in preventing and treating osteoporosis. Osteoporosis. 2001; 27: 131-139.
8. Andreoli A, Monteleone M, Van Loan M, Promenzio L, Tarantino U, De Lorenzo A. Effects of different sports on bone density and muscle mass in highly trained athletes. Med Sci Sports Exerc. 2001; 33: 507-511.
9. Kelley GA, Kelley KS, Tran ZV. Resistance training and bone mineral density in women: a meta-analysis of controlled trials. Am J Phys Med Rehabil. 2001; 80: 65-77.

10. Hoshi A, Watanabe H, Chiba M, Inaba Y. Bone density and mechanical properties in femoral bone of swim loaded age mice. Biomed Environ Sci. 1998; 11: 243–250.
11. Notomi T, Okazaki Y, Okimoto N, Saitoh S, Nakamura T, Suzuki M. A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of bone in growing rats. Eur J Appl Physiol. 2000; 83: 469-474.
12. Huang TH, Lin SC, Chang FL, Hsieh SS, Liu SH, Yang RS. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. J Appl Physiol. 2003; 95: 300–307.
13. Wallace JM, Rajachar RM, Allen MR, Bloomfield AS, Robey PG, Young MF, et al. Exercise-induced changes in the cortical bone of growing mice are bone- and gender-specific. Bone. 2007; 40: 1120–1127.
14. Huang TH, Hsieh SS, Liu SH, Chang FL, Liu SC, Yang RS. Swimming Training Increases the Post-Yield Energy of Bone in Young Male Rats. Calcif Tissue Int. 2010; 86: 142–153.
15. Shiguemoto GE, Prestes J, Leite RD, Pereira GB, Pontes CL, D'Ávila FV et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. Scand J Med Sci Sports. 2012; 22: 607–617.
16. Kung AW, Ng F. A rat model of thyroid hormone-induced bone loss: effect of antiresorptive agents on regional bone density and osteocalcin gene expression. Thyroid. 1994; 4: 93-98.
17. Heinonen A, Sievänen H, Kannus P, Oja P, Pasanen M, Vuori I. High-impact exercise and bones of growing girls: a 9-month controlled trial. Osteoporos Int. 2000; 11: 1010-1017.

18. Snyder A, Zierath JR, Hawley JA, Sleeper MD, Craig BW. The effects of exercise mode, swimming vs. running, upon bone growth in the rapidly growing female rat. Mech Ageing Dev. 1992; 66: 59-69.
19. Tsukahara N, Toda A, Goto J, Ezawa I. Cross-sectional and longitudinal studies on the effect of water exercise in controlling bone loss in Japanese postmenopausal women. J Nutr Sci Vitaminol. 1994; 40: 37-47.
20. Bourrin S, Palle S, Genty C, Alexandre C. Physical exercise during remobilization restores a normal bone trabecular network after tail suspension-induced osteopenia in young rats. J Bone Miner Res. 1995; 10: 820-828.
21. Hart KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. J Appl Physiol. 2001; 91: 1663-1668.
22. Swissa-Sivan A, Simkin A, Leichter I, Nyska M, Statter M, Bivas A, et al. Effect of swimming on bone growth and development in young rats. Bone Miner. 1989; 7: 91-105.
23. Nakao C, Ookawara T, Kizaki T, Oh-Ishi S, Miyazaki H, Haga S, et al. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzymes in mouse tissues. J Appl Physiol. 2000; 88: 649-654.
24. Gobatto CA, de Mello MA, Sibuya CY, de Azevedo JR, dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2001; 130: 21-27.
25. Freitas JS, Carneiro-Junior MA, Franco FSC, Rezende LS, dos Santos AS, Maia HO, et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. Rev Bras Med Esporte. 2010; 16: 134-138.

26. Turner CH, Takano Y, Owan I. Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. J Bone Miner Res. 1995; 10: 1544–1549.
27. Mosley JR, Lanyon LE. Growth Rate Rather Than Gender Determines the Size of the Adaptive Response of the Growing Skeleton to Mechanical Strain. Bone. 2002; 30: 314-319.
28. Chang FL, Huang TH, Hsieh SS, Yang RS, Lin CC. The effects of different endurance training intensity on systematic and peripheral citrate synthase activity. Med Sci Sports Exerc. 2001; 33: 295.
29. Swissa-Sivan A, Azoury R, Statter M, Leichter I, Nyska A, Nyska M, et al. The effect of swimming n bone modeling and composition in young adult rats. Calcif Tissue Int. 1990; 47: 173–177.
30. Jiang Y, Zhao J, Rosen C, Geusens P, Genant HK. Perspectives on bone mechanical properties and adaptive response to mechanical challenge. Journal of Clinical Densitometry. 1999; 2: 423-433.

7.2. Artigo Original 2

COMPORTAMENTO BIOMECÂNICO DO FÊMUR DE RATOS DIABÉTICOS SUBMETIDOS A DUAS MODALIDADES DE EXERCÍCIO AQUÁTICO

Silveira, P.V.C.[1]; Nery, C.S.[3]; Silva, R.T.B.[2]; Mesquita, G.N.[2]; Coutinho, M..P.G.[1]; Amaral, M.V.F.[2]; Bezerra, M.A.[3]; Moraes, S.R.A.[4]

[1] Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;
[2] Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;
[3] Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO;
[4] Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

RESUMO

Os efeitos de modalidades de exercício aquático, sem sustentação de peso, sobre o déficit biomecânico de ossos diabéticos não foi explorada até o presente momento. Assim, este estudo se propôs a comparar os efeitos de um protocolo de natação sem sobrecarga com os efeitos de um protocolo de salto em meio aquático sobre a resposta biomecânica de fêmures de ratos diabéticos. Foram utilizados 108 ratos *Wistar* machos, distribuídos em 6 grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS, Grupo Controle Natação – GCN, Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR, Grupo Diabético Sedentário– GDS, Grupo Diabético Natação – GDN, e Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR. Os animais diabéticos foram induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina. Foram acompanhados durante o experimento: peso corporal, níeis glicêmicos, diurese, ingestão alimentar e o consumo hídrico. Os animais do GCN e GDN realizaram um protocolo de natação com duração de 9 semanas, enquanto os animais do GCTR e GDTR foram submetidos a um protocolo de salto em meio aquático também com duração de 9 semanas. Os fêmures esquerdos dos animais foram submetidos ao ensaio mecânico de flexão em três pontos para avaliação biomecânica. Para análise estatística utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo *post hoc* Bonferroni, e o nível de significância dotado foi 5%. Os animais de todos os grupos diabéticos apresentaram pesos corporais finais inferiores, e diurese, ingestão alimentar e consumo hídrico aumentados em relação aos animais dos grupos controles ($p<0,05$). Os níveis glicêmicos dos animais de todos os grupos diabéticos apresentaram-se aumentados ao longo de todo o período experimental quando comparados aos animais controles ($p<0,05$). Foi observada uma redução na tensão máxima e na força máxima nos fêmures dos animais do GDS em comparação aos controles ($p<0,05$); a força máxima dos fêmures dos animais do GDN mostrou-se reduzida em comparação aos animais do GDS ($p<0,05$); o módulo elástico e a força máxima dos fêmures dos animais do GDTR mostraram-se reduzidos em comparação ao GDS ($p<0,05$); e a deformação máxima dos fêmures apresentou-se aumentada nos animais do GDTR em relação ao GDS ($p<0,05$). O diabetes experimental promoveu déficit biomecânico na estrutura do fêmur de ratos *Wistar*. No entanto, a utilização isolada de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga ou de um protocolo de exercício de resistência em meio aquático não foi eficiente em reverter tais alterações biomecânicas.

Palavras-chave: Diabetes, tecido ósseo, biomecânica, exercício

INTRODUÇÃO

Há muito vem sendo discutido o potencial do diabetes *mellitus* (DM) em ocasionar anormalidades musculoesqueléticas (REDDY *et al*., 2001; BROTMAN; GIROD, 2002; FOLLAK *et al*., 2004) como osteopenia e alterações do processo de osteogênese na remodelação de uma fratura (MAINARDES *et al.*, 2007).

A associação entre baixa densidade mineral óssea (DMO) e diabetes tipo 1 já está determinada com consistência (LOPEZ-IBARRA *et al*., 2001; ZHANG *et al*., 2009), visto que tem sido relatada em vários estudos clínicos com humanos (BOUILLON, 1991; FORSÉN, 1999; NICODEMUS; FOLSON, 2001; MIAO *et al*., 2005; AHMED *et al*., 2006; MIAZGOWSKI *et al*., 2007) e em estudos experimentais com animais (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1991, 1993; REDDY *et al*., 2001).

Além das repercussões sobre a massa óssea, estudos têm mostrado que o diabetes interfere na formação da rede de colágeno, afetando portanto, a integridade biomecânica do osso, gerando assim, ossos mais frágeis e com risco de fratura aumentado (DIXIT; EKSTROM, 1980; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; REDDY *et al*., 2001; FOLLAK *et al*., 2004; PRISBY *et al*., 2008; ZHANG *et al*., 2009; KORRES *et al*., 2013).

A prática de exercício físico regular, juntamente com a insulinoterapia e o planejamento alimentar, tem sido considerada como uma das três principais abordagens no controle e tratamento do DM tipo 1 (DE ANGELIS *et al*., 2006; ZISSER *et al*., 2011). Estas abordagens têm como objetivo aproximar as condições metabólicas do indivíduo com DM tipo 1 de um estado fisiológico normal, consequentemente prevenindo ou retardando as complicações crônicas do DM (DE ANGELIS *et al*., 2006).

Além disso, o exercício físico também tem seus efeitos benéficos sobre a estrutura óssea propriamente dita. Sabe-se que a osteogênese pode ser estimulada por pequenas deformações na arquitetura óssea, provocadas por forças mecânicas, que pode atuar diretamente na taxa de remodelamento ósseo (BIKLE *et al*., 2003) e que diferentes modelos de exercício podem causar diferentes adaptações no tecido ósseo, pois as respostas ósseas vão ser afetadas por volume de treinamento, número de séries e repetições, período de descanso entre as séries, e o tipo de contração muscular (AGUIAR *et al*., 2010).

Embora a sustentação de peso seja um dos fatores mais importantes para influenciar a formação e reabsorção óssea (KUNG; NG, 1994; HEINONEN *et al*., 2000), há evidências de que exercícios que não utilizam sustentação de peso, como a natação (SNYDER *et al*., 1992; TSUKAHARA *et al.*, 1994), também poderiam beneficiar a osteogênese através do trabalho de contração muscular, promovendo adaptação positiva na massa óssea (BOURRIN *et al*., 1995; HART *et al*., 2001).

A influência de modalidades de exercício aquático, ou seja, sem sustentação de peso, sobre o déficit biomecânico observado em ossos de diabéticos não foi explorada até o presente momento. Portanto, a proposta do presente estudo foi comparar os efeitos de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga com os efeitos de um protocolo de exercício resistido de salto em meio aquático sobre a resposta biomecânica de fêmures de ratos induzidos quimicamente ao diabetes experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Foram utilizados 108 ratos *Wistar,* machos, mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em temperatura de 23 ± 1ºC, ciclo de luz invertido (12 h) e livre acesso à dieta (Labina® – Purina) e água. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (41x34x16 cm) em grupos de 3 a 4 animais por gaiola. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE), ofício nº 23076.026692/2012-80, e seguiu as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Na idade de 60 dias os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS (n=18), Grupo Controle Natação – GCN (n=18), Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR (n=18), Grupo Diabético Sedentário– GDS (n=18), Grupo Diabético Natação – GDN (n=18), e Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR (n=18).

Indução ao DM

Os animais dos grupos GDS, GDN e GDTR, aos 60 dias de vida, após jejum de 12h, foram induzidos ao diabetes pela administração única, via intraperitoneal, de

uma solução de Estreptozotocina (*STZ – Sigma Chemical Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 60mg/kg de peso do animal. Os animais não diabéticos receberam doses equivalentes da solução tampão citrato de sódio objetivando o nivelamento do estresse físico ofertado para os grupos diabéticos. Ao final de 30 minutos após o tratamento os animais foram alimentados normalmente (DALL'AGO et al., 2002).

Avaliação clínica e metabólica

O peso corpóreo dos animais foi aferido semanalmente ao longo de todo o experimento. A verificação da glicose sanguínea (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active) foi feita antes da indução ao diabetes, no 3º e 7º dias após a indução, e, após a confirmação do diabetes, semanalmente até o fim do experimento.

Cinco animais, de cada grupo experimental foram colocados em gaiolas metabólicas (Tecniplast 3701M081) em três momentos distintos: na semana pré-indução, na semana pós-indução e ao final do período referente ao protocolo de exercício físico. Em cada um destes momentos foram realizados os registros da ingestão hídrica (ml), ingestão alimentar (g) e diurese (ml) a cada 24 horas, por um período de 72 horas.

Protocolos de Exercício

Uma semana após a indução do diabetes experimental, os animais dos grupos treinados, dependendo do grupo ao qual pertencessem, foram submetidos a dois protocolos de treinamento em meio aquáticos: natação e treino de resistência de salto. Os animais dos grupos sedentários foram colocados na própria gaiola com uma pequena quantidade de água na mesma temperatura, por uma hora, cinco dias por semana, durante nove semanas para se submeterem a um estresse aquático semelhante.

O protocolo de natação de baixa intensidade (GOBATTO *et al*., 2001; FREITAS *et al*., 2010) teve a duração de nove semanas, uma hora/dia, cinco dias/semana (NAKAO *et al*., 2000). A primeira semana foi de adaptação, onde os grupos treinados foram inicialmente ambientados ao meio líquido, começando com 10 minutos de nado, sendo acrescido 10 minutos por dia até completar 50 minutos/dia. O treino foi realizado em um tanque cilíndrico com 85cm de comprimento e 50cm de diâmetro, com temperatura da água mantida em 32º ±1 C.

O protocolo de exercício de resistência de alta intensidade teve duração de nove semanas e frequência de cinco sessões semanais (ROGATTO; LUCIANO, 2001), e consistiu na realização de saltos em um tanque cilíndrico com 20cm de diâmetro e 70 cm de comprimento, com uma sobrecarga acoplada ao tórax do animal através de um colete. Para ajuste da sobrecarga a ser utilizada por cada animal, os animais eram pesados no primeiro dia de cada semana e a partir daí era calculada a sobrecarga individual para cada animal. A primeira semana do protocolo foi destinada a adaptação dos animais, onde eles fizeram inicialmente três séries de 10 saltos com um minuto de intervalo entre as séries, inicialmente com carga de 30% do peso corporal nos dois primeiros dias da semana, 40% no terceiro e quarto dia, e 50% do peso corporal no quinto dia da semana. A profundidade da água também foi sendo aumentada progressivamente, iniciando com 100% do comprimento dos animais no primeiro dia, 120% no segundo e terceiro dia, e 140% no quarto e quinto dia da semana. A partir da segunda semana, as sessões de treinamento consistiram na realização de quatro séries de 10 saltos com sobrecarga equivalente a 50% do peso corpóreo, com um minuto de intervalo entre as séries (ROGATTO; LUCIANO, 2001) e com a profundidade da água correspondendo a 140% do comprimento corporal do rato (ROGATTO; LUCIANO, 2001; ROGATTO, 2001). A temperatura da água foi mantida a 32º ±1 C.

Eutanásia e Coleta do material

Após o término do período referente ao treinamento, os animais de todos os grupos foram anestesiados com solução de Xilazina (Rompum® - Bayer) (10mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Ketalar®) (25mg/kg), 0,10 ml para cada 100g de peso e tiveram seus fêmures esquerdos coletados e encaminhados ao ensaio mecânico de flexão em três pontos.

Ensaio Mecânico

O ensaio mecânico foi realizado utilizando a máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X, com célula de carga de 50KN, da seguinte maneira: a superfície anterior do fêmur foi posta em contato com os pinos de apoio da máquina, distanciados de 20 mm (HUANG *et al*., 2003); o pino de carga foi posicionado no meio da diáfise do fêmur (Figura 1). O módulo de ruptura à flexão foi

determinado pelo ensaio de flexão em três pontos nas condições de temperatura ambiente e com velocidade de 0,5 mm/min. O deslocamento do espécime foi registrado automaticamente por um software acoplado à máquina de ensaio e os parâmetros estudados foram módulo elástico (MPa), tensão máxima (MPa), força máxima (N) e deformação máxima (%).

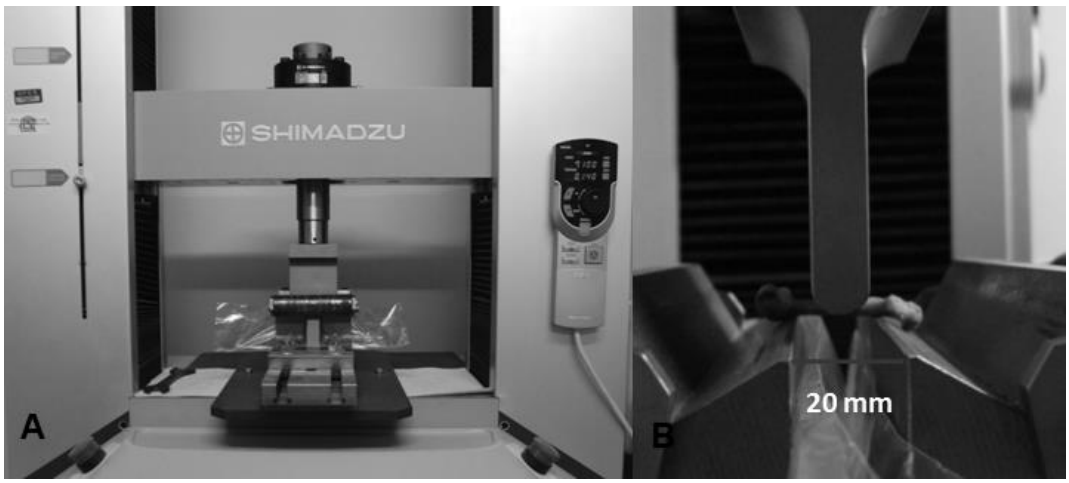


Figura 1 – (A) Máquina de ensaio mecânico convencional Shimadzu Autograph AG-X; (B) Fêmur posicionado na máquina de ensaio de flexão em três pontos.

Análise estatística

Para a análise estatística utilizou-se o software SPSS versão 20.0 e foi empregada a Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo *post hoc* Bonferroni, e adotou-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Ao longo do período experimental, ocorreram algumas perdas amostrais nos grupos diabéticos em decorrência do estado metabólico bastante prejudicado desses animais. No GDS houve uma perda, no GDN três perdas, e no GDTR duas perdas.

Peso corporal

A evolução ponderal dos animais encontra-se representada na Figura 2. A partir da terceira semana após a indução do diabetes, período referente à segunda semana dos protocolos de exercício, os animais de todos os grupos diabéticos apresentaram pesos corporais inferiores aos animais dos grupos controles ($p<0,05$),

e essas diferenças se mantiveram até o final do estudo. Além disso, a partir da nona semana após a indução, referente à sétima semana de exercício, os animais do GDN passaram a apresentar pesos corporais menores em relação aos animais do GDS.

Avaliação metabólica

Os parâmetros da avaliação metabólica estão dispostos na Tabela 1. Na avaliação da primeira gaiola metabólica, antes da indução do diabetes, não foram observadas diferenças nos parâmetros entre os grupos. Na segunda gaiola metabólica, realizada uma semana após a indução, observou-se que os animais dos grupos diabéticos apresentaram diurese, ingestão alimentar e consumo hídrico aumentados em relação aos animais dos grupos controles ($p<0,05$), e estas diferenças se mantiveram na avaliação da terceira gaiola metabólica, após o término do período referente aos protocolos de exercício ($p<0,05$).

A expressão das glicemias dos animais encontra-se representada graficamente na Figura 3. Foi observado que após a indução do diabetes, os níveis glicêmicos dos animais de todos os grupos diabéticos apresentaram-se aumentados ao longo de todo o período experimental ($p<0,05$). Na quinta semana de exercício, os animais do GDN mostraram glicemias menores em relação aos demais grupos diabético ($p<0,05$), porém não alcançaram valores de normalidade não diabética; e na sexta semana foi observado que os animais do GDTR apresentaram níveis glicêmicos aumentados em relação aos demais grupos diabéticos ($p<0,05$).

Efeito do diabetes na resposta biomecânica do fêmur

Não foram constatadas diferenças no módulo elástico e na deformação máxima entre o GDS e o GCS ($p>0,05$). No entanto, foi observada uma redução na tensão máxima e na força máxima nos fêmures dos animais do GDS em comparação aos controles ($p<0,05$) (Figura 4).

Efeito do exercício de natação na resposta biomecânica do fêmur

Não foram constatadas diferenças no módulo elástico e na tensão máxima entre os animais do GDN e do GDS, e nem entre os animais do GCN e do GCS ($p>0,05$). A força máxima dos fêmures dos animais do GDN mostrou-se reduzida em comparação ao animais do GDS ($p<0,05$), porém não diferiu entre os controles

(p>0,05). Para o parâmetro de deformação máxima, não foram observadas diferenças entre o GDN e o GDS ou entre o GCN e o GCS (p>0,05) (Figura 4).

Efeito do exercício de resistência na resposta biomecânica do fêmur

Foi observada uma redução do módulo elástico nos animais do GDTR em comparação aos animais do GDS (p<0,05), além de diminuição deste parâmetro nos animais do GCTR em relação aos animais dos demais grupos controles. Quanto à tensão máxima, não foram constatadas diferenças entre os animais diabéticos treinados e o GDS, e nem entre os controles treinados e o GCS (p>0,05). A força máxima dos fêmures dos animais do GDTR mostrou-se reduzida em comparação ao GDS (p<0,05), porém não diferiu entre os controles (p>0,05). A deformação máxima dos fêmures apresentou-se aumentada nos animais do GCTR e do GDTR em relação aos seus respectivos controles (p<0,05) (Figura 4).

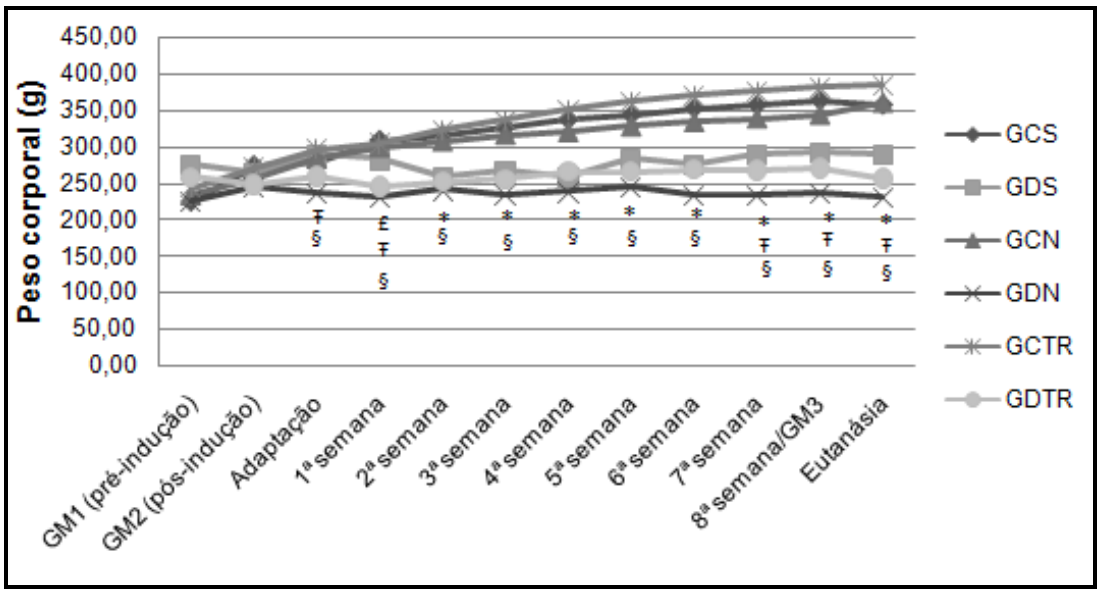


Figura 2 – Evolução ponderal (g) dos animais durante o período experimental. * - p<0,05 – GDS < GCS. § - p<0,05 – GDN e GDTR < GCN e GCTR. £ - p<0,05 – GDTR > GDS. ₮ - p<0,05 – GDN < GDS (Anova com um fator com *post hoc* Bonferroni).

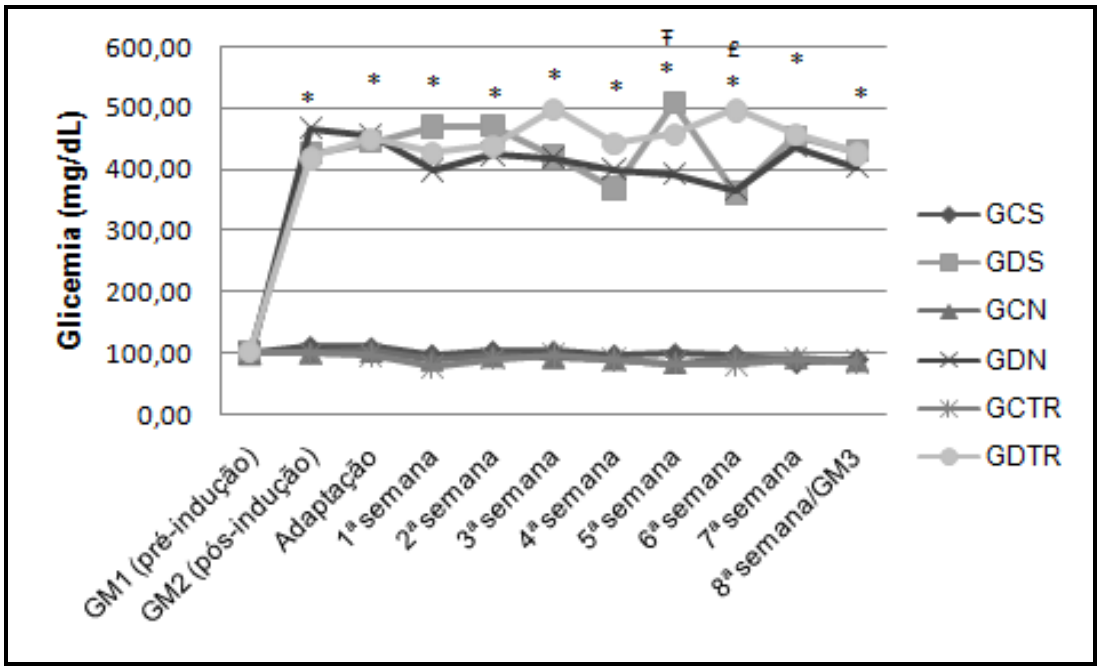


Figura 3 – Expressão da Glicemia (mg/dL) dos animais durante o período experimental. * - p<0,05 – GDS, GDN e GDTR < GCS, GCN e GCTR. £ - p<0,05 – GDTR > GDS e GDN. ₮ - p<0,05 – GDN < GDTR e GDS (Anova com um fator com *post hoc* Bonferroni).

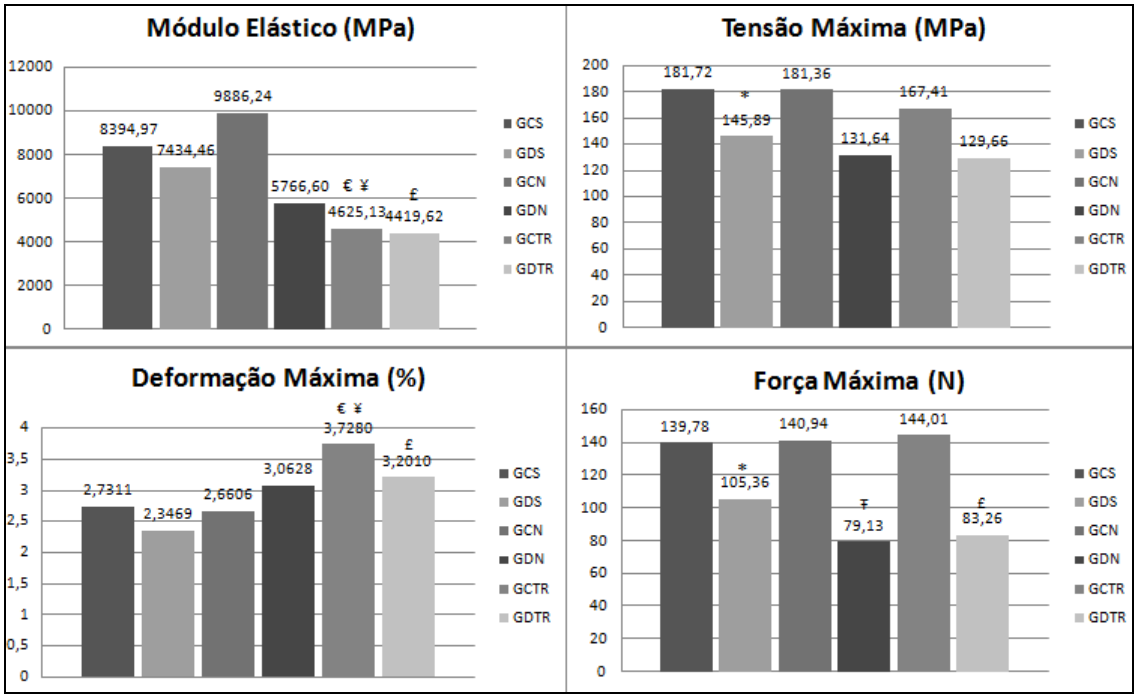


Figura 4 – Efeito do exercício de natação e do exercício de resistência sobre as propriedades biomecânicas dos fêmures dos ratos dos grupos estudados. Valores expressos em média. *p<0,05 (GDS x GCS), ₮p<0,05 (GDN x GDS), £p<0,05 (GDTR x GDS), #p<0,05 (GDTR x GDN), §p<0,05 (GCN x GCS), €p<0,05 (GCTR x GCS), ¥p<0,05 (GCTR x GCN). Anova *one way* seguido de *post hoc* Bonferroni.

Tabela 1 – Valores médios da diurese (mL), consumo hídrico (mL) e ingestão alimentar (g) dos animais durante a GM1 (pré-indução), GM2 (pós-indução) e GM3 (pós-treinamento).

	GM1			GM2			GM3		
Grupo	**Diurese ± DP (ml)**	**Consumo Hídrico ± DP (ml)**	**Ingestão Alimentar ± DP (g)**	**Diurese ± DP (ml)**	**Consumo Hídrico ± DP (ml)**	**Ingestão Alimentar ± DP (g)**	**Diurese ± DP (ml)**	**Consumo Hídrico ± DP (ml)**	**Ingestão Alimentar ± DP (g)**
GCS	13 ± 2,12	60,8 ± 3,13	29,34 ± 2,63	11,75 ± 2,11	43,8 ± 4,98	25,35 ± 3,00	13,3 ± 1,30	51,3 ± 4,91	26,56 ± 2,18
GDS	11,4 ± 1,43	47,8 ± 4,81	25,84 ± 4,40	167,8 ± 35,94*	209,7 ± 41,83*	41,61 ± 8,67*	191 ± 54,12*	231,5 ± 58,53*	44,59 ± 6,97*
GCN	11,7 ± 2,10	55,2 ± 4,39	28,82 ± 2,15	11,6 ± 1,24	46,1 ± 4,39	24,78 ± 2,36	13,45 ± 3,55	35 ± 6,40	24,11 ± 1,39
GDN	13,7 ± 2,13	55 ± 9,02	22,97 ± 1,72	118,5 ± 44,33*	149,8 ± 56,03*	38,84 ± 5,02*	153,2 ± 59,94*	216,8 ± 59,93*	42,02 ± 10,72*
GCTR	9,5 ± 2,21	66,2 ± 8,92	27,53 ± 2,49	10,6 ± 2,18	51,4 ± 6,80	28,47 ± 3,89	10,65 ± 1,05	34,8 ± 2,86	22,58 ± 1,68
GDTR	11 ± 1,45	44,8 ± 6,14	24,09 ± 3,53	166,1 ± 17,85*	249,8 ± 23,57*#	48,96 ± 0,85*#	175,80 ± 30,71*	238,5 ± 30,43*	44,77 ± 7,09*

Valores expresso em Média ± Desvio Padrão (DP). * - $p<0,05$ – GDS, GDN e GDTR < GCS, GCN e GCTR. # - $p<0,05$ – GDTR > GDN.
Anova com um fator (*One way*) com *post hoc* Bonferroni.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que as modalidades de exercício utilizadas não foram capazes de combater os prejuízos biomecânicos nos fêmures de ratos diabéticos. Além disso, nenhum dos dois protocolos de exercício conseguiu reverter as intensas alterações no estado clínico e metabólico dos animais.

Os pesos corporais de todos os animais diabéticos mostraram-se inferiores, a partir da terceira semana de instalação do diabetes até o final do período experimental, em comparação aos pesos dos animais controles. Estes resultados corroboram os achados de outros estudos (REDDY *et al*., 2001; LERCO; SPADELLA; MACHADO*,* 2003; OLIVEIRA *et al*., 2012; BEZERRA, 2012), que atestaram os efeitos deletérios do diabetes sobre o crescimento e ganho ponderal de animais diabéticos. Além disso, não foi verificado nenhum efeito benéfico das modalidades de exercício empregadas no presente estudo, na prevenção da perda de peso corporal dos animais diabéticos exercitados, corroborando os achados de Oliveira *et al*. (2012), que utilizou a mesma metodologia para indução ao diabetes em animais submetidos a um protocolo exercício em esteira.

Na avaliação das glicemias evidenciou-se que após a indução os animais diabéticos apresentaram glicemias acima de 200mg/dL, diferindo dos grupos controles. Esta diferença permaneceu durante todo o período experimental, indicando que os exercícios empregados no presente estudo, como única intervenção terapêutica, não foram capazes de normalizar os níveis glicêmicos dos animais diabéticos, como demonstrado em outros estudos prévios (GOMES *et al*., 2006; OLIVEIRA *et al*.; 2012).

Os demais parâmetros metabólicos avaliados no estudo também se mostraram intensamente afetados pelo estado diabético, visto que a partir da indução, os animais diabéticos de todos os grupos apresentaram aumento de diurese, ingestão alimentar e consumo hídrico, mantenho tais alterações mesmo ao final do período referente aos protocolos de exercício. Estes resultados assemelham-se aos de estudos prévios que trabalharam com animais de igual idade e linhagem (LERCO; SPADELLA; MACHADO*,* 2003; OLIVEIRA *et al*., 2012; BEZERRA, 2012; NERY, 2013), e indicam que o exercício como única terapêutica

para o diabetes não foi capaz de reverter as alterações metabólicas sofridas pelos animais diabéticos.

Quanto à avaliação biomecânica, os resultados do presente estudo indicaram que o período de 10 semanas de diabetes foi suficiente para promover alteração na resposta biomecânica dos fêmures, visto que foi observada uma redução da força máxima e da tensão máxima nos ossos dos animais diabéticos em relação aos controles. Estes achados corroboraram os achados dos estudos de Erdal *et al*. (2011), que verificou redução na força máxima e tensão máxima dos ossos de ratos diabéticos, sem observar alteração no módulo elástico e nem na deformação máxima; e os resultados de Reddy *et al*. (2001), que verificaram redução na força máxima de fêmures e tíbias de ratos diabéticos comparados a controles.

De forma contrária, Verhaeghe *et al.* (2000) não observaram alterações nos parâmetros biomecânicos do teste de flexão em três pontos do fêmur dos diabéticos em relação a ratos controles. Segundo eles, estas diferenças podem ter ocorrido devido à idade de indução dos animais ao diabetes (10 semanas) ou também à duração da doença dos animais (7 semanas), ou seja, o intervalo entre a indução e a análise do osso. A redução na competência biomecânica em ratos diabéticos irá depender da severidade, idade de início e duração do diabetes, além da linhagem dos animais utilizada no estudo (VERHAEGHE *et al*., 2000; REDDY *et al*., 2001).

Quanto ao efeito do exercício sobre o déficit biomecânico observado nos fêmures dos animais diabéticos, nenhuma das modalidades utilizadas no presente estudo conseguiu exercer um efeito positivo. De forma similar, o estudo de Verhaeghe *et al.* (2000) não observou diferenças nas propriedades biomecânicas de fêmures de ratos diabéticos treinados em esteira comparados a diabéticos não treinados.

Até o presente momento não se tem relatos da utilização de modalidades aquáticas para tratar o déficit biomecânico ósseo observado em animais diabéticos. No entanto, era esperado que os protocolos tivessem efeitos benéficos sobre a estrutura óssea dos diabéticos diante dos efeitos comprovados do exercício de natação sobre a produção sistêmica e local de IGF-1 (GOMES *et al*., 2006), e visto que já foi demonstrado em estudos com animais não diabéticos os benefícios de tal modalidade na melhora da resposta biomecânica de ossos. Hart *et al.* (2001), que

avaliaram as propriedades mecânicas de ossos de ratas osteopênicas submetidas a natação sem sobrecarga, demonstrando maior módulo elástico quando comparados aos ossos dos animais controles. Huang *et al*. (2003), utilizando um protocolo de natação com sobrecarga em ratos jovens, observaram aumento no módulo elástico de fêmures de ratos nadadores em relação aos ratos controles, apesar de não terem constatado diferenças na força máxima dos ossos entre os grupos.

Foi verificado que a força máxima dos animais diabéticos que realizaram exercício de natação foi menor que a dos diabéticos sedentários, indicando que a natação pode ter sido prejudicial para estrutura óssea dos animais diabéticos. Há evidencias que sugerem que a sensibilidade óssea decai rapidamente após o início dos exercícios, atingindo uma saturação mecânico-sensorial, depois da qual as alterações na estrutura óssea dependerão do aumento da intensidade da carga (ROBLING *et al*., 2002; HONDA *et al*., 2003). Como o protocolo adotado foi de baixa intensidade, sem sobrecarga adicional, é possível que o estímulo mecânico não tenha sido suficiente para restaurar a força óssea dos fêmures dos animais diabéticos.

Quanto ao exercício de salto em meio aquático, caracterizado com exercício de resistência de alta intensidade, esta modalidade também parece ter exercido um efeito deletério sobre a biomecânica óssea dos ratos diabéticos, visto que o módulo elástico e a força máxima mostraram-se reduzidas e a deformação máxima mostrou-se aumentada nos animais treinados nesta modalidade em comparação aos diabéticos sedentários, indicando que os fêmures dos diabéticos treinados deformaram mais suportando menos tensão, além de terem suportado menos carga até a fratura, traduzindo-se assim em ossos mais frágeis.

De forma contrária aos nossos achados, o estudo de Renno *et al*. (2007) avaliou a resposta biomecânica dos fêmures de ratas osteopênicas a um treinamento de saltos em meio aquático com cargas progressivas e verificou maiores valores de força máxima nos fêmures dos animais treinados em comparação aos controles, o que segundo os autores, pode ser considerado como uma resposta estimulatória positiva do exercício sobre o ossos osteopênicos. Isso pode ser explicado pela idéia defendida por Iwamoto; Yeh; Aloia (1999), que defendem que mais de 70% do momento de inclinação de um osso são transmitidos pela força

muscular ao invés de pelo peso corpóreo, sugerindo que a força muscular impõe cargas maiores aos ossos do que as forças gravitacionais associadas ao peso. Além disso, Renno *et al*. (2007) defenderam o protocolo utilizado no estudo baseando-se na ideia de que curtos períodos de exercícios com períodos de descanso entre os mesmos são mais eficazes em produzir uma resposta osteogênica do que uma única sessão mais prolongada (ROBLING *et al*., 2002).

No entanto, vários estudos demonstraram que o diabetes está associado à formação aumentada de radicais livres e à grande estresse oxidativo (ATALAY; LAAKSONEN, 2002; NAZIROGLU; CAY, 2001; NAZIROGLU *et al*., 2004; NAZIROGLU; BUTTERWORTH, 2005). Devido ao aumento na formação de radicais livres no diabetes, o equilíbrio celular normalmente presente entre formação de radicais e proteção antioxidante do organismo fica comprometido (LEE *et al*., 2002).

É possível que a alta intensidade do exercício de resistência de salto tenha agravado ainda mais esse estresse oxidativo, excedendo a capacidade das defesas antioxidantes e contribuindo para um pior controle metabólico dos animais diabéticos do GDTR (JI, 1999; URSO; CLARKSON, 2003; AGUILÓ *et al*., 2005). Esse pior controle metabólico, por sua vez, provavelmente contribuiu com prejuízo no metabolismo ósseo que não conseguiu ser revertido apenas com a utilização dos exercícios. Talvez fosse necessária a utilização de uma terapêutica mais específica que normalizasse o estado metabólico do animal diabético, como a insulinoterapia. Segundo Follak *et al*. (2004) o estado metabólico diabético bem controlado com o uso de insulina pode prevenir a mineralização deficiente e as alterações biomecânicas em ossos de ratos diabéticos em cicatrização após fratura. Ainda neste raciocínio, Thrailkill *et al*. (2005) afirmaram que a formação óssea pode ser preservada em ratos diabéticos tratados com administração sistêmica de insulina.

Assim, a utilização isolada de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga ou de um protocolo de exercício resistido de salto em meio aquático não foi eficiente em reverter as alterações biomecânica no fêmur de ratos diabéticos, tampouco foi capaz de melhorar os aspectos clínicos e metabólicos dos animais.

AGRADECIMENTO

Ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

A FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pelo apoio financeiro ao Srta. Silveira.

Ao CNPq – Edital Universal – (nº 476815/2011-8) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. F. Efeitos do treinamento físico sobre a resistência mecânica do terço proximal do fêmur de ratos. **Acta Ortop Bras**, v. 18, n. 5, p.245-9, 2010.

AGUILÓ, A. et al. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. **Physiol Behav**, v. 84, p. 1-7, 2005.

AHMED, L. A. et al. Diabetes mellitus and the risk of nonvertebral fractures: the Tromso study. **Osteoporos Int**, v. 17, p. 495-500, 2006.

ATALAY, M.; LAAKSONEN, D. E. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. **J Sports Sci Med**, v. 1, p. 1-14, 2002.

BEZERRA, M. A. **Análise do efeito preventivo da atividade física em meio aquático sobre a instalação da tendinopatia do tendão calcâneo em ratos diabéticos.** 2012. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2012.

BIKLE, D. D. et al. The impact of skeletal unloading on bone formation. **Gravit Space Biol Bull**, v. 16, p. 45-54, 2003.

BOUILLON, R. Diabetic bone disease. **Calcif Tissue Int**, v. 49, p. 155–160, 1991.

BOURRIN, S. et al. Physical exercise during remobilization restores a normal bone trabecular network after tail suspension-induced osteopenia in young rats. **J Bone Miner Res**, v. 10, p. 820-8, 1995.

BROTMAN, D. J.; GIROD, J. P. The metabolic syndrome: A tug-of-war with no winner. **Clin J Sport Med**, v. 69, n.12, p.990-994, 2002.

DALL'AGO, P. et al. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 7, p. 843-849. 2002.

DE ANGELIS, K. et al. Efeitos Fisiológicos do Treinamento Físico em Pacientes Portadores de Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 6, p. 1005-1013, 2006.

DIXIT, P. K.; EKSTRÖM, R. A. Decreased breaking strength of diabetic rat bone and its improvement by insulin treatment. **Calcif Tissue Int**, v. 32, p. 195-199, 1980.

EINHORN, T. A. et al. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes. **J Orthop Res**, v. 6, n. 3, p. 317-23, 1988.

ERDAL, N. et al. Deterioration of Bone Quality by Streptozotocin (STZ)-Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Rats, **Biol Trace Elem Res**, v. 140, p. 342–353, 2011.

FOLLAK, N. et al. Improving Metabolic Control Reverses the Histomorphometric and Biomechanical Abnormalities of an Experimentally Induced Bone Defect in Spontaneously Diabetic Rats, **Calcif Tissue Int**, v. 74, p. 551-560, 2004.

FOLLAK, N. et al. Histomorphometric evaluation of the influence of the diabetic metabolic state on bone defect healing depending on the defect size in spontaneously diabetic BB/OK rats. **Bone**, v. 35, p. 144-152, 2004.

FORSÉN, L. et al. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: Results from the Nord-Trøndelag Health Survey. **Diabetologia**, v. 42, p. 920-925, 1999.

FREITAS, J. S. et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, p. 134-138, 2010.

GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, p. 21-27, 2001.

GOMES, R. J. et al. Effects of swimming training on bone Mass and the GH/IGF-1 axis in diabetic rats, **Growth Horm IGF Res**, v. 16, p. 326–331, 2006.

HART, K. J. et al. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1663-8, 2001.

HEINONEN, A. et al. High-impact exercise and bones of growing girls: a 9-month controlled trial. **Osteoporos Int**, v. 11, p. 1010-7, 2000.

HONDA, A. et al. High-impact exercise strengthens bone in rats ovariectomized with the same outcome as Sham rats. **J Appl Physiol**, v. 95, p. 1032-72, 2003.

HOU, J. C-H.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, J. Experimental diabetes, insulin treatment, and femoral neck morphology and biomechanics in rats. **Clin Orthop Relat Res**, v. 264, p. 278-285, 1991.

HOU, J. C-H.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, J. Effects of severe diabetes and insulin on the femoral neck of the immature rat. **J Orthop Res**, v. 11, p. 263-271, 1993.

HOUGH, S. et al. Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. **Endocrinology**, v. 108, p. 2228-2234, 1981.

HUANG, T. H. et al. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone, **J Appl Physiol**, v. 95, p. 300–307, 2003.

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

JI, L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 222, p. 283– 92, 1999.

KORRES, N. et al. Biomechanical characteristics of bone in streptozotocin-induced diabetic rats: An in-vivo randomized controlled experimental study, **World J Orthop**, v. 4, n. 3, p. 124-129, 2013.

KUNG, A. W.; NG, F. A. A rat model of thyroid hormone-induced bone loss: effect of antiresorptive agents on regional bone density and osteocalcin gene expression. **Thyroid**, v. 4, p. 93-8, 1994.

LEE, D. M. et al. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins prior to, during, and after correction of diabetic ketoacidosis. **J Diabetes Complications**, v. 16, p. 294-300, 2002.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos: estudo clínico e laboratorial. **Acta Cir Bras**, v. 18, n. 2, p. 132-42, 2003.

LOPEZ-IBARRA, P. J. et al. Bone mineral density at time of clinical diagnosis of adult-onset type 1 diabetes mellitus. **Endocr Pract**, v. 7, p. 346–351, 2001.

MAINARDES, K. C. et al. Effect of diabetes associated to aging in the consolidation of fractures in the tibia of rats. **Rev Bras Ortop**, v. 42, n. 3, p. 55-63, 2007.

MIAO, J. et al. Elevated hip fracture risk in type 1 diabetic patients: a population-based cohort study in Sweden. **Diabetes Care**, v. 28, p. 2850–2855, 2005.

MIAZGOWSKI, T. et al. Bone mineral density and hip structural analysis in type 1diabetic men. **Eur J Endocrinol**, v. 156, p. 123-127, 2007.

NAKAO, C. et al. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzimes in mouse tissues. **J Appl Physiol**, 88, 649-54, 2000.

NAZIROGLU, M.; BUTTERWORTH, P. J. Protective Effects of Moderate Exercise With Dietary Vitamin C and E on Blood Antioxidative Defense Mechanism in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. **Can J Appl Physiol**, v. 30, n. 2, p. 172-185, 2005.

NAZIROGLU, M. et al. The effects of hormone replacement therapy combined with vitamins C and E on antioxidant levels and lipid profiles in postmenopausal women with type 2 diabetes. **Clin Chem Acta**, v. 344, p. 63-71, 2004.

NAZIROGLU, M.; CAY, M. Protective role of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on the antioxidative defense mechanism in rats with diabetes induced streptozotocin. **Biol Trace Elem Res**, v. 79, p. 149-159, 2001.

NERY, C. S. **Avaliação do treino aeróbio de natação sobre as propriedades biomecânicas do tendão de calcâneo de ratos com diabetes experimental.** 2013. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2013.

NICODEMUS, K. K.; FOLSON, A. R. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 24, p. 1192-1197, 2001.

OLIVEIRA, R. R. et al. Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, v. 26, p. 163–168, 2012.

PRISBY, R. D. et al. 2008 Altered bone mass, geometry and mechanical properties during the development and progression of type 2 diabetes in the Zucker diabetic fatty rat. **J Endocrinol**, v. 199, p. 379-388, 2008.

REDDY, G. K. et al. The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 54, n. 1, p. 1-8, 2001.

RENNO, A. C. M. et al. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. **Acta Ortop Bras**, v. 15, n. 5, p. 276-279, 2007.

ROBLING, A. G. et al. Shorter, more frequent mechanical loading sessions enhance bone mass. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, p. 196-202, 2002.

ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Rev Bras Ativ Fís Saúde**, v. 2, p. 39-46, 2001.

ROGATTO, G. P. **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros endócrino-metabólicos relacionados ao estresse** [Dissertação de mestrado]. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 2001.

SHIRES, R. et al: The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat. **J Lab Clin Med**, v. 97, p. 231-240, 1981.

SNYDER A. et al. The effects of exercise mode, swimming vs. running, upon bone growth in the rapidly growing female rat. **Mech Ageing Dev**, v. 66, p. 59-69, 1992.

THRAILKILL, K. M. et al. Bone Formation Is Impaired in a Model of Type 1 Diabetes. **Diabetes**, v. 54, p. 2875–2881, 2005.

TSUKAHARA, N. et al. Cross-sectional and longitudinal studies on the effect of water exercise in controlling bone loss in Japanese postmenopausal women. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 40, n. 1, p. 37-47, 1994.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, p. 41-54, 2003.

VERHAEGHE, J. et al. Effects of exercise and disuse on bone remodeling, bone mass, and biomechanical competence in spontaneously diabetic female rats. **Bone**, v. 27, n. 2, p. 249-56, 2000.

VERHAEGHE, J. et al. Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes: Decreased bone turnover and osteoporosis. **Diabetes**, v. 39, p. 477-482, 1990.

ZHANG, L. et al. Bone biomechanical and histomorphometrical investment in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. **Acta Diabetol**, v. 46, p. 19-126, 2009.

ZISSER, H. et al. Exercise and diabetes. **Int J Clin Pract Suppl**, v. 170, p. 71-5, 2011.

7.3. Artigo Original 3

ESTUDO COMPARATIVO DA AÇÃO DE DUAS MODALIDADES DE EXERCÍCIO AQUÁTICO SOBRE O DÉFICIT ÓSSEO DE RATOS DIABÉTICOS

Silveira, P.V.C.[1]; Nery, C.S[2]; Brito, A.C.N.L.[3]; Esteves, A.C.F.[2,5]; Silva, R.T.B.[3]; Coutinho, M.P.G.[1]; Pontual, M.L.A.[4]; Moraes, S.R.A.[5]

[1] Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;
[2] Doutorando da Rede Nordestina de Biotecnologia – RENORBIO.
[3] Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;
[4] Docente, Departamento de Odontologia Clínica e Preventiva da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;
[5] Docente, Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

RESUMO

O presente estudo se propôs a avaliar e comparar o efeito de duas modalidades de exercício em meio aquático sobre o déficit na estrutura óssea de ratos induzidos experimentalmente ao diabetes. Foram utilizados 108 ratos *Wistar* machos, distribuídos em 6 grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS, Grupo Controle Natação – GCN, Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR, Grupo Diabético Sedentário– GDS, Grupo Diabético Natação – GDN, e Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR. Os animais diabéticos foram induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina. Os animais do GCN e GDN realizaram um protocolo de natação com duração de 9 semanas, enquanto os animais do GCTR e GDTR foram submetidos a um protocolo de salto em meio aquático também com duração de 9 semanas. Foram avaliados o peso, o comprimento e a densidade óssea radiográfica dos fêmures direitos. Para análise estatística utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo *post hoc* Bonferroni, e o nível de significância dotado foi 5%. Os fêmures dos animais de todos os grupos diabéticos mostraram pesos e comprimentos menores em relação aos animais dos grupos controles ($p<0,05$), e o peso dos fêmures dos animais do GDN foram menores comparados aos fêmures dos animais do GDS ($p<0,05$). Os animais do GDS apresentaram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral e no côndilo lateral do fêmur quando comparados aos animais do GCS ($p<0,05$). Os animais do GDTR mostraram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral comparados aos animais do GDS, e menor densidade na diáfise média do fêmur em relação aos animais do GDS e GDN, além de maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em comparação aos animais do GDS ($p<0,05$). Os animais do GDN apresentaram maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em relação aos animais do GDS ($p<0,05$). As modalidades de exercício empregadas não foram efetivas em restaurar os prejuízos no peso e comprimento dos ossos dos animais diabéticos. Por outro lado, os protocolos de exercícios conseguiram aumentar a densidade óssea na região do côndilo lateral do fêmur, representando um efeito osteogênico positivo dos exercícios aquáticos sobre uma área específica de osso trabecular.

Palavras-chave: Diabetes, tecido ósseo, densitometria, exercício

INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* (DM) é um grupo de doenças metabólicas caracterizado por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção e/ou na ação da insulina. A

hiperglicemia decorrente do diabetes está associada, em longo prazo, a danos, disfunções e insuficiência em diferentes sistemas do corpo, incluindo anormalidades musculoesqueléticas como formação óssea reduzida e retardo na cicatrização de fraturas (REDDY *et al*., 2001; SCHWARTZ, 2003; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

A presença de uma menor densidade mineral óssea (DMO) em diabéticos do tipo 1 já foi demonstrada, tanto em estudos experimentais com animais (DIXIT; EKSTRÖM, 1980; HOUGH *et al*., 1981; SHIRES *et al*., 1981; EINHORN *et al*., 1988; VERHAEGHE *et al*., 1990; HOU; ZERNICKE; BARNARD, 1991, 1993; REDDY *et al*., 2001; MOTYL; MCCABE, 2009), quanto em estudos com humanos (BOUILLON, 1991; FORSÉN, 1999; NICODEMUS; FOLSON, 2001; MIAO *et al*., 2005; AHMED *et al*., 2006; MIAZGOWSKI *et al*., 2007), e atualmente há evidências claras de que a principal alteração esquelética no DM tipo 1 é a formação óssea reduzida ao invés da reabsorção óssea aumentada (MCCABE, 2007; MERLOTTI *et al*., 2010).

Por outro lado, como medida terapêutica integrante do tratamento do diabetes, alguns trabalhos têm demonstrado que o exercício físico facilita a captação periférica da glicose e o metabolismo de glicogênio e proteínas, regulando e melhorando as condições gerais de saúde de indivíduos diabéticos (LUCIANO; MELLO, 1998; OLIVEIRA; ROGATTO; LUCIANO, 2002).

No caso do tecido ósseo, a carga mecânica, resultante do exercício físico, é essencial ao desenvolvimento esquelético durante o crescimento, assim como permite modificar a geometria e a morfologia do osso após atingir a maturidade (NIEHOFF *et al*., 2004). Essa carga pode ser causada por forças gravitacionais ou por contrações musculares (RENNO *et al*., 2007). Nesse sentido, atividades que produzem maiores estímulos ao tecido ósseo têm-se mostrado eficientes em estimular o aumento da DMO, como o treinamento resistido, o qual consiste em uma atividade voltada para o desenvolvimento das funções musculares através da aplicação de sobrecargas (ANDREOLI *et al*., 2001; KELLEY; KELLEY; TRAN, 2001; KELLEY; KELLEY, 2004).

Por outro lado, embora a sustentação de peso seja um dos fatores mais importantes para influenciar a formação e reabsorção óssea, há evidências de que exercícios que não utilizam sustentação de peso, como a natação, também

poderiam beneficiar a osteogênese (SNYDER *et al*., 1992; BOURRIN *et al*., 1995; HART *et* al., 2001; RENNO *et al*., 2007).

Desta forma, este estudo se propôs a avaliar e comparar a ação de duas modalidades de exercício em meio aquático (natação e exercício resistido de salto com sobrecarga) sobre o peso, o comprimento e a densidade óssea de fêmures de ratos induzidos experimentalmente ao diabetes.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais Experimentais

Foram utilizados 36 ratos *Wistar,* machos, mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em temperatura de 23 ± 1ºC, ciclo de luz invertido (12 h) e livre acesso à dieta (Labina® – Purina) e água. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (41x34x16 cm) em grupos de 3 a 4 animais por gaiola. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE), ofício nº 23076.026692/2012-80, e seguiu as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Na idade de 60 dias os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS (n=6), Grupo Controle Natação – GCN (n=6), Grupo Controle Treino de Resistência – GCTR (n=6), Grupo Diabético Sedentário– GDS (n=6), Grupo Diabético Natação – GDN (n=6), e Grupo Diabético Treino de Resistência – GDTR (n=6).

Indução ao diabetes

Os animais dos grupos GDS, GDN e GDTR, após jejum de 12h, foram induzidos ao diabetes pela administração única, via intraperitoneal, de uma solução de Estreptozotocina (*STZ – Sigma Chemical Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 60mg/kg de peso do animal. Os animais não diabéticos receberam doses equivalentes de solução tampão citrato de sódio objetivando o nivelamento do estresse físico ofertado para os grupos diabéticos.

Protocolos de exercício

Uma semana após a indução do diabetes experimental, os animais dos grupos treinados, dependendo do grupo ao qual pertencessem, foram submetidos a dois protocolos de treinamento em meio aquáticos: natação e treino resistido de salto. Os animais dos grupos sedentários foram mantidos nas suas próprias gaiolas contendo uma pequena quantidade de água na mesma temperatura, por uma hora, cinco dias por semana, durante nove semanas para se submeterem a um estresse aquático semelhante aos animais dos grupos treinados.

O protocolo de natação de baixa intensidade (GOBATTO *et al*., 2001; FREITAS *et al*., 2010) teve a duração de nove semanas, uma hora/dia, cinco dias/semana (NAKAO *et al*., 2000). A primeira semana foi de adaptação, onde os grupos treinados foram inicialmente ambientados ao meio líquido, começando com 10 minutos de nado, sendo acrescido 10 minutos por dia até completar 50 minutos/dia. O treino foi realizado em um tanque cilíndrico com 85cm de comprimento e 50cm de diâmetro, com temperatura da água mantida em 32º ±1 C.

O protocolo de exercício de resistência de alta intensidade teve duração de nove semanas e frequência de cinco sessões semanais (ROGATTO; LUCIANO, 2001), e consistiu na realização de saltos em um tanque cilíndrico com 20cm de diâmetro e 70 cm de comprimento, com uma sobrecarga acoplada ao tórax do animal através de um colete. Para ajuste da sobrecarga a ser utilizada por cada animal, os animais eram pesados no primeiro dia de cada semana e a partir daí era calculada a sobrecarga individual para cada animal. A primeira semana do protocolo foi destinada a adaptação dos animais, onde eles fizeram inicialmente três séries de 10 saltos com um minuto de intervalo entre as séries, inicialmente com carga de 30% do peso corporal nos dois primeiros dias da semana, 40% no terceiro e quarto dia, e 50% do peso corporal no quinto dia da semana. A profundidade da água também foi sendo aumentada progressivamente, iniciando com 100% do comprimento dos animais no primeiro dia, 120% no segundo e terceiro dia, e 140% no quarto e quinto dia da semana. A partir da segunda semana, as sessões de treinamento consistiram na realização de quatro séries de 10 saltos com sobrecarga equivalente a 50% do peso corpóreo, com um minuto de intervalo entre as séries (ROGATTO; LUCIANO, 2001) e com a profundidade da água correspondendo a

140% do comprimento corporal do rato (ROGATTO; LUCIANO, 2001; ROGATTO, 2001). A temperatura da água foi mantida a 32º ±1 C.

Eutanásia e coleta do material

Após o término do período referente ao treinamento, os animais de todos os grupos foram anestesiados com solução de Xilazina (Rompum® - Bayer) (10mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Ketalar®) (25mg/kg), 0,10 ml para cada 100g de peso e tiveram seus fêmures direitos coletados, dissecados e pesados em uma balança de precisão (BS3000A). Foram realizadas as mensurações do comprimento dos ossos com auxílio de um paquímetro (Vernier Calipers, 0,01mm) e em seguida os fêmures foram estocados em formol a 10% até o momento da análise densitométrica.

Análise densitométrica do fêmur

A análise densitométrica foi realizada através de tomadas radiográficas dos fêmures direitos dos ratos de todos os grupos com o aparelho de raio-X *Spectro* 1070 (Dabi Atlante) com regime elétrico de 70Kvp e 10mA. O tempo de exposição utilizado foi de 0,3s e a distância foco-filme foi de 30cm. As imagens foram captadas por sensores do tipo placas de fósforo, e digitalizadas utilizando o sistema digital Digora Optime®. Foram analisados os seguintes pontos: cabeça femoral, diáfise média, côndilo medial e côndilo lateral do fêmur. Os valores de pixels foram convertidos para valores de espessura em milímetros de alumínio (mm/Al) utilizando o *software Image* J (LOUZADA *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2009).

Análise estatística

Para a análise estatística utilizou-se o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 e foi empregada a Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo *post hoc* Bonferroni, e adotou-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Avaliação estesiológica do fêmur

Os valores médios do peso e do comprimento dos fêmures direitos estão dispostos na Tabela 1. Foi constatado que os fêmures dos animais de todos os

grupos diabéticos mostraram pesos e comprimentos menores em relação aos animais dos grupos controles ($p<0,05$). Além disso, o peso dos fêmures dos animais do GDN foram menores comparados aos fêmures dos animais do GDS ($p<0,05$), e o peso dos fêmures dos animais do GCTR foram maiores em comparação aos fêmures dos animais do GCN ($p<0,05$). Em relação ao comprimento, foi demonstrado que os fêmures dos animais do GCTR mostraram maiores valores médios do comprimento dos fêmures em comparação aos animais dos demais grupos controles ($p<0,05$).

Análise densitométrica

Nas análises da densitometria óssea radiográfica (Figura 1), foi observado que os animais do GDS apresentaram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral e no côndilo lateral do fêmur, correspondendo a uma redução de aproximadamente 30% e 24%, respectivamente, quando comparados aos animais do GCS ($p<0,05$). Os animais do GDTR mostraram menores valores médios de densidade óssea na cabeça femoral comparados aos animais do GDS, e menor densidade na diáfise média do fêmur em relação aos animais do GDS e GDN. Além disso, constatou-se uma maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em comparação aos animais do GDS ($p<0,05$), correspondendo a um aumento de cerca de 22% na densidade óssea desta região nos ossos dos animais que realizaram exercício de salto. Os animais do GDN apresentaram maior densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em relação aos animais do GDS ($p<0,05$), correspondendo a um aumento de 37,5% na massa óssea desta região nos ossos dos animais que realizaram exercício de natação. Ainda foi observado que os animais do GCTR mostraram menor densidade média na cabeça femoral, e maior densidade no côndilo lateral do fêmur em comparação aos animais do GCS e GCN ($p<0,05$). Não foram observadas diferenças entre os grupos na densidade óssea do côndilo medial do fêmur ($p>0,05$).

Tabela 1 – Valores médios do peso do fêmur (g) e do comprimento do fêmur (cm) dos animais.

GRUPO	Peso do fêmur ± DP (g)	Comprimento do fêmur direito ± DP (cm)
GCS	0,93 ± 0,07	3,77 ± 0,10
GDS	0,81 ± 0,13*	3,51 ± 0,16*
GCN	0,90 ± 0,07	3,79 ± 0,10
GDN	0,68 ± 0,07*€	3,46 ± 0,26*
GCTR	1,04 ± 0,12§	3,98 ± 0,20£
GDTR	0,75 ± 0,16*	3,43 ± 0,25*

Valores expressos em Média ± Desvio Padrão (DP). Anova com um fator (*One way*) com *post hoc* Bonferroni. * - p<0,05 – GDS, GDN e GDTR < GCS, GCN e GCTR. € - p<0,05 – GDN < GDS. £ - p<0,05 – GCTR > GCS e GCN. §- p<0,05 – GCTR > GCN.

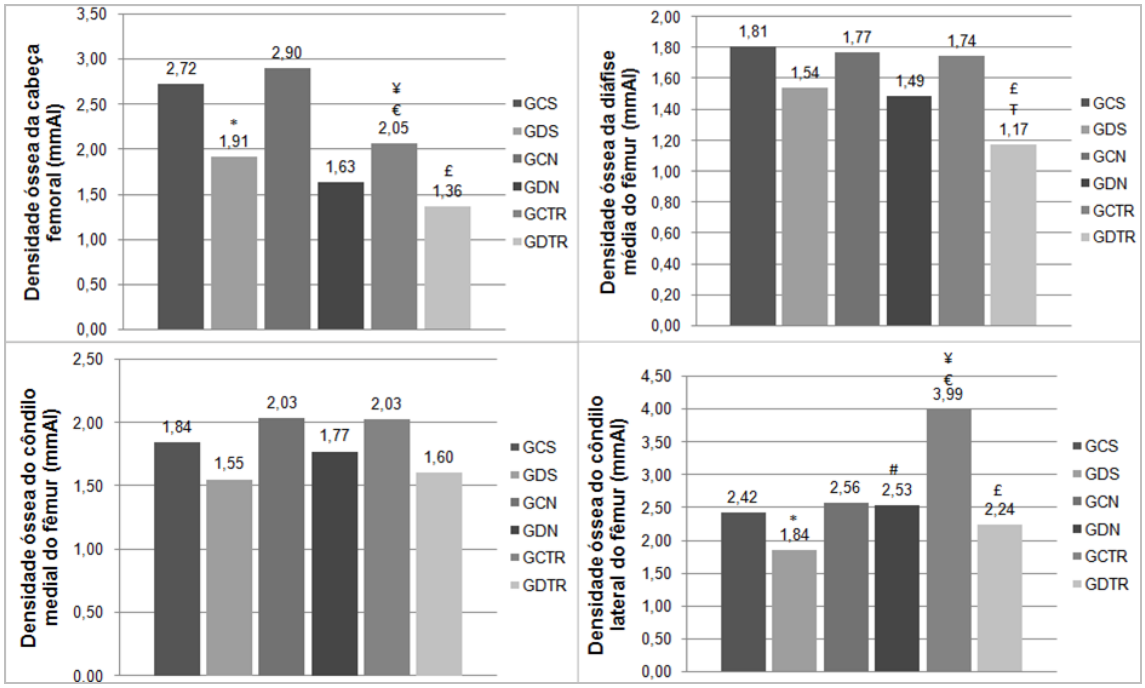


Figura 1 – Efeito do exercício de natação e do exercício de resistência sobre as densidades ósseas radiográficas dos fêmures dos ratos dos grupos estudados. Valores expressos em média ± DP. *p<0,05 (GDS x GCS), #p<0,05 (GDN x GDS), £p<0,05 (GDTR x GDS), ₮p<0,05 (GDTR x GDN), ¥p<0,05 (GCTR x GCS), €p<0,05 (GCTR x GCN). Anova *one way* seguido de *post hoc* Bonferroni.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que as modalidades de exercício empregadas exerceram poucos resultados benéficos diante dos prejuízos na estrutura óssea de fêmures de ratos diabéticos, verificando-se apenas o aumento na densidade óssea da região do côndilo lateral do fêmur.

Na avaliação estesiológica do fêmur, obtivemos menores valores de peso dos fêmures em todos os grupos diabéticos em relação aos grupos controles, corroborando os achados dos estudos de Verhaeghe *et al*. (2000) e Erdal *et al*. (2011). Quanto à avaliação do comprimento dos fêmures, nossos resultados mostraram que este parâmetro também foi menor nos animais dos grupos diabéticos quando comparado aos dos animais controles, diferindo dos achados de Verhaeghe *et al*. (2000) e Erdal *et al*. (2011), que não observaram diferenças no comprimento de ossos entre animais diabéticos e controles. Os menores valores de peso e comprimentos dos ossos dos animais diabéticos, encontrados no nosso estudo, podem ser atribuídos ao menor peso corporal final destes animais em relação aos diabéticos sedentários. Além disso, de acordo com Gomes *et al*. (2006), a insulinopenia característica do estado diabético provoca redução nos níveis de GH e IGF-1, levando a prejuízos na maturação esquelética, resultando em ossos menores.

Quanto ao efeito dos protocolos de exercício, ambas as modalidades de exercício desenvolvidas no presente estudo, parecem não terem sido capazes de reverter as alterações antropométricas na estrutura óssea afetada pelo diabetes, corroborando os achados de Verhaeghe *et al*. (2000). Além disso, no presente estudo, o exercício de natação parece ter sido prejudicial para o peso do fêmur, visto que nos animais do GDN a média de peso dos fêmures foi inferior em relação ao peso dos fêmures dos diabéticos sedentários. Porém, estes resultados não eram esperados, visto que de acordo com Zanconato *et al*. (1994), o exercício físico é capaz de estimular a produção muscular local de IGF-1 mesmo na ausência de GH, e este tem um impacto direto sobre a estrutura óssea (KUPFER *et al*., 1993).

De forma contrária ao nosso estudo, Gomes *et al*. (2006) encontraram maiores comprimentos de tíbias em ratos diabéticos treinados com natação de moderada intensidade em comparação a ratos diabéticos sedentários. No entanto, no nosso estudo utilizamos dois protocolos de exercício, um de natação de baixa

intensidade, e outro que consistiu num exercício de resistência de alta intensidade. Segundo Stokes (2003), um dos principais determinantes da resposta do GH ao exercício é intensidade do exercício: parece haver uma relação dose resposta linear com a secreção do GH aumentando à medida que aumenta a intensidade do exercício, o que pode explicar os nossos resultados para o grupo que foi submetido à natação de baixa intensidade.

Por outro lado, também não obtivemos resultados favoráveis com o protocolo de alta intensidade. Este achado pode ser explicado baseando-se na potencialidade que o exercício de alta intensidade apresenta em aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio, levando a um maior estresse oxidativo (AGUILÓ *et al*., 2005), processo este que é já encontra-se aumentado no estado diabético, e contribui para o aparecimento de danos em diversos órgãos, incluindo complicações ósseas (HAMADA *et al*., 2009; WAUQUIER *et* al., 2009; WEI *et* al., 2009; YAMAGISHI, 2011).

No presente estudo, o método escolhido para a análise densitométrica óssea foi a técnica da densitometria óssea radiográfica, uma metodologia reprodutível e de boa acurácia graças aos recursos de informática para digitalização e processamento das imagens (LOUZADA *et al*., 2001), sendo portando utilizada em vários estudos que investigaram alterações no metabolismo ósseo (LOUZADA *et al*., 2001; MEURER *et al*., 2003; ZECCHIN *et al*., 2004; SILVA *et al*., 2007).

Nosso estudo demonstrou um efeito deletério do diabetes induzido por estreptozotocina sobre a densidade óssea de fêmures de ratos, visto que foi verificada uma redução de cerca de 30% e 24% da densidade óssea dos fêmures dos animais do GDS nas regiões da cabeça femoral e côndilo lateral do fêmur, respectivamente. Estes achados estão de acordo com as inúmeras evidências de redução na massa óssea observada em diabéticos tipo 1, tanto em estudos clínicos (HUI; EPSTEIN; JOHNSTON, 1985; SATO *et al*., 1987; KEMINK *et al*., 2000; ROZADILLA *et al*., 2000; LOPEZ-IBARRA *et al*., 2001; VALERIO *et al*., 2002; MIAZGOWSKI *et al*., 2007) quanto em estudos experimentais (HOUGH *et al*., 1981; MATTILA; KNUUTTILA; SVANBERG, 1998; HORCAJADA-MOLTENI *et al*., 2001; MANAIA, 2009; SILVA *et al*., 2009; ERDAL *et al*., 2012).

Foi contatado que as regiões mais afetadas pelo diabetes foram as regiões com predominância de osso trabecular. Estes achados estão de acordo com achados do estudo de Horcajada-Molteni *et al*. (2001), que avaliou a DMO de fêmures de ratos após 40 dias de diabetes induzido por estreptozotocina, verificando que a redução da densidade foi mais severa na região da metáfise distal, rica em osso trabecular do que na região da diáfise, rica em osso cortical. Além disso, reforçando nossos achados, há evidências de estudos com humanos e animais que verificaram maior perda de osso trabecular do que de osso cortical em situações de inatividade ovariana (STEPAN *et al*., 1987; WRONSKI *et al*., 1989, LIU; KALU, 1990; KALU, 1991; PASTOUREAU; CHOMEL; BONNET, 1995). Neste sentido, tem sido demonstrado que os fatores que controlam o aumento de massa óssea são particularmente críticos em sítios trabeculares, talvez mais do que na diáfise cortical (VAN DER MEULEN *et al*., 2006), fazendo com que as regiões trabeculares experimentem maior perda óssea e risco de fratura (CULLEN; SMITH; AKHTER, 2001).

No presente estudo observamos que os efeitos das duas modalidades de exercício sobre as densidades ósseas dos fêmures variaram dependendo dos pontos específicos avaliados. Na cabeça femoral e na diáfise média, tanto a natação quanto o exercício de salto não foram capazes de aumentar a densidade óssea nos animais diabéticos e controles treinados. Ainda foi observado que o exercício de salto reduziu a densidade óssea na cabeça femoral nos animais do GDTR em comparação aos animais do GDS, reduziu a densidade na diáfise média do fêmur nos animais do GDTR em comparação aos animais do GDS e GDN, e reduziu também a densidade óssea na cabeça femoral dos animais do GCTR em relação aos animais do GCS e GCN.

Esses efeitos deletérios do exercício de salto sobre a massa óssea podem ser atribuídos ao aumento da produção de radicais livres que ocorre com o exercício de alta intensidade (AGUILÓ *et al*., 2005), potencializando o estresse oxidativo característico do estado metabólico alterado no diabetes (HAMADA *et al*., 2009; WAUQUIER *et* al., 2009; WEI *et al*., 2009; YAMAGISHI, 2011). Estas alterações contrubuem para o desequilíbrio no metabolismo ósseo, visto que têm sido demonstrado que o estresse oxidativo inibe a diferenciação de osteoblastos (MODY

et al., 2001; BAI *et al*., 2004) além de induzir injúrias e apoptose osteoblástica (CHEN *et al*., 2005).

Há poucas evidências experimentais e clínicas a respeito dos efeitos do exercício sobre a massa óssea de diabéticos (VERHAEGUE *et al*., 2000; GOMES *et al*., 2006; ELHABASHY *et al*., 2011; MAGGIO *et al*., 2012). Em particular, estudos com diabetes experimental têm demonstrado resultados contraditórios. Verhaeghe *et al*. (2000) não verificaram melhora da DMO de ratos diabéticos submetidos a um protocolo de 8 semanas de corrida em esteira, e ainda observaram diminuição da densidade na diáfise média do fêmur desses animais. Por outro lado, Gomes *et al*., (2006) avaliaram o conteúdo mineral ósseo de ratos diabéticos submetidos a um protocolo de natação de 6 semanas e verificaram que o exercício foi capaz de estimular a massa óssea nos animais diabéticos treinados.

Inúmeros fatores podem ter contribuído para as divergências desses resultados. A idade de indução dos animais, as diferentes metodologias utilizadas para promover o diabetes e a duração da doença podem ter influenciado a intensidade das alterações metabólicas sofridas pelos animais, e consequentemente afetado a gravidade do acometimento da estrutura óssea (VERHAEGHE *et al*. 2000). Somado a isso, as características do protocolo de exercício, como duração, frequência, volume de treinamento, número de séries e repetição, período de descanso entre as séries, assim como o tipo de carga a que o osso e submetido (compressão, estiramento, torção), são aspectos que influenciam diretamente a resposta do tecido ósseo (AGUIAR *et al*., 2010; VAL *et al*., 2013).

Foram observados alguns resultados benéficos dos protocolos de exercício utilizados no presente estudo sobre a densidade óssea dos animais treinados. Na região do côndilo lateral do fêmur foi constatado que tanto a natação quanto o exercício de salto promoveram o aumento da densidade óssea nos animais diabéticos treinados em relação aos diabéticos sedentários. Os animais do GCTR também mostraram aumento da densidade óssea no côndilo lateral do fêmur em comparação aos demais animais controles. Estes resultados podem ser atribuídos ao fato de regiões ósseas ricas em osso trabecular, como o côndilo lateral, serem mais responsivas a cargas mecânicas por serem metabolicamente mais ativas devido a seu arranjo arquitetural (MENKES *et al*., 1993; FORWOOD; TURNER,

1995; KEMMLER *et al*., 2002; CADORE; BRENTANO; KRUEL, 2005; WARNER *et al*., 2006).

Além disso, sabe-se que os exercícios aquáticos dinâmicos, apesar de serem atividades sem impacto, exercem uma carga ativa sobre o osso através das contrações musculares, podendo promover osteogênese (HART *et al*., 2001; MELTON *et al*., 2004; RENNO *et al*., 2007). Segundo Iwamoto; Yeh; Aloia (1999) mais de 70% do momento de inclinação de um osso são transmitidos pela força muscular ao invés de pelo peso corpóreo, amparando a idéia de que a força muscular impõe cargas maiores aos ossos do que as forças gravitacionais associadas ao peso.

CONCLUSÃO

As modalidades de exercício empregadas, como únicas abordagens terapêuticas, não foram efetivas em restaurar os prejuízos no peso e comprimento dos ossos, assim como na redução da densidade da cabeça femoral. Por outro lado, os protocolos de exercícios conseguiram aumentar a densidade óssea na região do côndilo lateral do fêmur, representando um efeito osteogênico positivo dos exercícios aquáticos sobre uma área específica de osso trabecular.

AGRADECIMENTO

Ao Departamento de Odontologia Clínica e Preventiva da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

A FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pelo apoio financeiro ao Srta. Silveira.

Ao CNPq – Edital Universal – (nº 476815/2011-8) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. F. Efeitos do treinamento físico sobre a resistência mecânica do terço proximal do fêmur de ratos. **Acta Ortop Bras**, v. 18, n. 5, p.245-9, 2010.

AGUILÓ, A. et al. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. **Physiol Behav**, v. 84, p. 1-7, 2005.

AHMED, L. A. et al. Diabetes mellitus and the risk of nonvertebral fractures: the Tromso study. **Osteoporos Int**, v. 17, p. 495-500, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, **Diabetes Care**, v. 37, s. 1, p. 81-90, 2014.

ANDREOLI, A. et al. Effects of different sports on bone density and muscle mass in highly trained athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 4, p. 507-11, 2001.

BAI, X. C. et al. Oxidative stress inhibits osteoblastic differentiation of bone cells by ERK and NF-kappaB. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 314, p. 197–207, 2004.

BOUILLON, R. Diabetic bone disease. **Calcif Tissue Int**, v. 49, p. 155–160, 1991.

BOURRIN, S. et al. Physical exercise during remobilization restores a normal bone trabecular network after tail suspension-induced osteopenia in young rats. **J Bone Miner Res**, v. 10, p. 820-8, 1995.

CADORE, E. L.; BRENTANO, M. A.; KRUEL, L. F. M. Efeitos da atividade física na densidade mineral óssea e na remodelação do tecido ósseo. **Rev Bras Med Esporte**, v. 11, n. 6, p. 373-379, 2005.

CHEN, R.M. et al. 2,6-diisopropylphenol protects osteoblasts from oxidative stress-induced apoptosis through suppression of caspase-3 activation. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1042, p. 448–59, 2005.

CULLEN, D. M.; SMITH, R. T.; AKHTER, M. P. Bone-loading response varies with strain magnitude and cycle number. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1971–1976, 2001.

DIXIT, P. K.; EKSTRÖM, R. A. Decreased breaking strength of diabetic rat bone and its improvement by insulin treatment. **Calcif Tissue Int**, v. 32, p. 195-199, 1980.

EINHORN, T. A. et al. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes. **J Orthop Res**, v. 6, n. 3, p. 317-23, 1988.

ELHABASHY, S. A. *et al*. Effect of Physical Exercise on Bone Density and Remodeling in Egyptian Type 1 Diabetic Osteopenic Adolescents, **Diabetol Metab Syndr**, v. 3, n. 25, 2011.

ERDAL, N. et al. The effect of insulin therapy on biomechanical deterioration of bone in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes mellitus in rats. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 97, p. 461-467, 2012.

ERDAL, N. et al. Deterioration of Bone Quality by Streptozotocin (STZ)-Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Rats, **Biol Trace Elem Res**, v. 140, p. 342–353, 2011.

FORSÉN, L. et al. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: Results from the Nord-Trøndelag Health Survey. **Diabetologia**, v. 42, p. 920-925, 1999.

FORWOOD, M. R.; TURNER, C. H. Skeletal adaptations to mechanical usage: results from tibial loading studies in rats. **Bone**, v. 17, p. 197S–205S, 1995.

FREITAS, J. S. et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, n. 2, p. 134-138, 2010.

GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, p. 21-27, 2001.

GOMES, R. J. et al. Effects of swimming training on bone Mass and the GH/IGF-1 axis in diabetic rats, **Growth Horm IGF Res**, v. 16, p. 326–331, 2006.

HAMADA, Y. et al. Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. **Bone**, v. 45, Suppl 1, p. S35-8, 2009.

HART, K. J. et al. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1663-8, 2001.

HORCAJADA-MOLTENI, M-N. et al. Amylin and Bone Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **J Bone Miner Res**, v. 16, n. 5, 2001.

HOU, J. C.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, R. J. Experimental diabetes, insulin treatment, and femoral neck morphology and biomechanics in rats. **Clin Orthop Relat Res**, v. 264, p. 278-285, 1991.

HOU, J. C.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, R. J. Effects of severe diabetes and insulin on the femoral neck of the immature rat. **J Orthop Res**, v. 11, p. 263-271, 1993.

HOUGH, S. et al. Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. **Endocrinology**, v. 108, p. 2228-2234, 1981.

HUI, S. L.; EPSTEIN, S.; JOHNSTON, C. C. A prospective study of bone mass in patients with type 1 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 60, p. 74–80, 1985.
IWAMOTO, J.; YEH, J. K.; ALOIA, J. F. Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. **Bone**, v. 24, p. 163-9, 1999.

KALU, D. N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. **Bone Miner**, v. 15, p. 175-92, 1991.

KELLEY, G. A.; KELLEY, K. S. Efficacy of resistance exercise on lumbar spine and femoral neck bone mineral density in premenopausal women: a meta-analysis of individual patient data. **J Womens Health (Larchmt)**, v. 13, n. 3, p. 293-300, 2004.

KELLEY, G. A.; KELLEY, K. S.; TRAN, Z. V. Resistance training and bone mineral density in women: a meta-analysis of controlled trials. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 80, n. 1, p. 65-77, 2001.

KEMINK, S. A. et al. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus: Prevalence and aspects of pathophysiology. **J Endocrinol Invest**, v. 23, p. 295–303, 2000.

KEMMLER, W. et al. Exercise effects on fitness and bone mineral density in early postmenopausal women: 1-year EFOPS results. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, p. 2115-23, 2002.

KUPFER, S. R. *et al*. , Enhancement of the anabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I by use of both agents simultaneously. **J Clin Invest**, v. 91, p. 391–396, 1993.

LIU, C. C.; KALU, D. N. Human parathyroid hormone-(1-34) prevents bone loss and augments bone formation in sexually mature ovariectomized rats. **J Bone Miner Res**, v. 5, p. 973-82, 1990.

LOPEZ-IBARRA, P. J. et al. Bone mineral density at time of clinical diagnosis of adultonset type 1 diabetes mellitus. **Endocr Pract**, v. 7, p. 346–351, 2001.

LOUZADA, Densitometria óptica radiográfica em análise de densidade óssea de mandíbulas de coelhos castrados, **Revista Faculdade Ondontologia**, v. 13, n. 1, p. 33-38, 2001.

LOUZADA, M. J. Q.; BELANGERO, W. D.; MARTINS, L. E. D. Avaliação de parâmetros biomecânicos pela densitometria radiográfica. Estudo “in vitro” em osso

cortical de tíbias de carneiros. **Brazilian Journal of Biomechanics**, n. 12, p. 33-38, 2006.

LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Rev Paul Educ Fís**, v. 12, n. 2, p. 202-9, 1998.

MACHADO, L. H. A. et al. Avaliação da reabsorção óssea de membros torácicos pela técnica de densitometria ópitica em imagens radiográficas no hiperparatireoidismo renal canino. **Vet Zootec**, v. 16, n. 2, p. 325-34, 2009.

MAGGIO, A. B. R. et al. Physical Activity Increases Bone Mineral Density in Children with Type 1 Diabetes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 7, p. 1206–1211, 2012.

MANAIA, C. N. **Estudo da fragilidade em fêmures de ratos diabéticos pela análise densitométrica e biomecânica.** 2009. (Dissertação de mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba - SP, 2009.

MATTILA, P. T.; KNUUTTILA, M. L. E.; SVANBERG, M. D. Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin-diabetic rats. **Metabolism***,* v.47, n.5, p. 578-583, 1998.

MCCABE, L. R. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. **J Cell Biochem**, v. 102, p. 1343-57, 2007.

MELTON, S. A. et al. Water exercise prevents femur density loss associated with ovariectomy in the retired breeder rat. **J Strength Cond Res**, v. 18, n. 3, p. 508-512, 2004.

MENKES, A. et al. Strength training increases regional bone mineral density and bone remodeling in middle-aged and older men. **J Appl Physiol**, v. 74, p. 2478-84, 1993.

MERLOTTI, D. et al. Mechanisms of impaired bone strength in type 1 and 2 diabetes. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 20, p. 683-690, 2010.

MEURER, M. I. et al. Análise da densidade óssea em região parassinfisária de mandíbulas humanas: comparação entre níveis de cinza em radiografias digitais (Sistema Digora) e unidades Hounsfield, **Rev Odonto Ciência**, v. 18, n. 40, p. 179-86, 2003.

MIAO, J. et al. Elevated hip fracture risk in type 1 diabetic patients: a population-based cohort study in Sweden. **Diabetes Care**, v. 28, p. 2850–2855, 2005.

MIAZGOWSKI, T. et al. Bone mineral density and hip structural analysis in type 1diabetic men. **Eur J Endocrinol**, v. 156, p. 123-127, 2007.

MODY, N. et al. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. **Free Radic Biol Med**, v. 31, p. 509–19, 2001.

MOTYL, K.; MCCABE, L. R. Streptozotocin, Type I Diabetes Severity and Bone. **Biol Proced** Online, v. 6, n. 11, p. 296-315, 2009.

NAKAO, C. et al. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzimes in mouse tissues. **J Appl Physiol**, 88, 649-54, 2000.

NICODEMUS, K. K.; FOLSON, A. R. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 24, p. 1192-1197, 2001.

NIEHOFF, A. et al. Adaptation of mechanical, morphological, and biochemical properties of the rat growth plate to dose-dependent voluntary exercise. **Bone**, v. 35, p. 899– 908, 2004.

OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 8, n. 6, p. 219-224, 2002.

PASTOUREAU, P.; CHOMEL, A.; BONNET, J. Specific Evaluation of Localized Bone Mass and Bone Loss in the Rat using Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Subregional Analysis. **Osteoporosis Int**, v. 5, p. 143-149, 1995.

REDDY, G. K. et al. The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 54, n. 1, p. 1-8, 2001.

RENNO, A. C. M. et al. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. **Acta Ortop Bras**, v. 15, n. 5, p. 276-279, 2007.

ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Rev Bras Ativ Fís Saúde**, v. 2, p. 39-46, 2001.

ROGATTO, G. P. **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros endócrino-metabólicos relacionados ao estresse.** 2001. (Dissertação de mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

ROZADILLA, A. et al. Bone mineral density in patients with type 1 diabetes mellitus. **Joint Bone Spine**, v. 67, p. 215–218, 2000.

SATO, K. et al. Bone histomorphometric study in biopsied iliac bone in diabetic patients. **J Bone Miner Res**, v. 4, p. 206–211, 1987.

SCHWARTZ, A. V. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? **Calcif Tissue Int**, v. 73, p. 515–519, 2003.

SHIRES, R. et al. The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat. **J Lab Clin Med**, v. 97, p. 231-240, 1981.

SILVA, M. J. et al. Type 1 diabetes in young rats leads to progressive trabecular bone loss, cessation of cortical bone growth, and diminished whole bone strength and fatigue life. **J Bone Miner Res**, v. 24, n. 9, p. 1618–27, 2009.

SILVA, A. R. S. et al. Análise da densidade óssea radiográfica de ratos submetidos ao alcoolismo crônico utilizando imagem digital. **Rev Odonto Ciência**, v. 22, n. 55, p. 77-81, 2007.

SNYDER A. et al. The effects of exercise mode, swimming vs. running, upon bone growth in the rapidly growing female rat. **Mech Ageing Dev**, v. 66, p. 59-69, 1992.

STEPAN, J. J. et al. Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. **Bone**, v. 8, p. 279-84, 1987.

STOKES, K. Growth hormone responses to sub-maximal and sprint exercise. **Growth Horm IGF Res**, v. 13, p. 225–238, 2003.

VAL, F. F. A. et al. Efeito de regimes de treinamento físico de alto impacto nas propriedades mecânicas de ossos: estudo experimental em ratas wistar. **Rev Bras Med Esporte**, v. 19, n. 4, p. 252-255, 2013.

VALERIO, G. et al. The lumbar bone mineral density is affected by long-term poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Horm Res**, v. 58, p. 266–272, 2002.

VAN DER MEULEN, M. C. H. et al. Cancellous bone adaptation to in vivo loading in a rabbit model. **Bone**, v. 38, p. 871–877, 2006.

VERHAEGHE, J. et al. Effects of exercise and disuse on bone remodeling, bone mass, and biomechanical competence in spontaneously diabetic female rats. **Bone**, v. 27, n. 2, p. 249-56, 2000.

VERHAEGHE, J. et al. Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes: Decreased bone turnover and osteoporosis. **Diabetes**, v. 39, p. 477-482, 1990.

WARNER, S. E. et al. Adaptations in cortical and trabecular bone in response to mechanical loading with and without weight bearing. **Calcif Tissue Int**, v. 79, p. 395-403, 2006.

WAUQUIER, F. et al Oxidative stress in bone remodelling and disease. **Trends Mol Med**, v.15, n. 10, p. 468-77, 2009.

WEI, W. et al. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. **Hemoglobin**, v. 33, n. 5, p. 370-7, 2009.

WRONSKI, T. J. et al. Long term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. **Calcif Tissue Int**, v. 45, p. 360-6, 1989.

YAMAGISHI, S. Role of advanced glycation end products (AGEs) in osteoporosis in diabetes. **Curr Drug Targets**, v. 12, n. 14, p. 2096-102, 2011.

ZANCONATO, S. et al. Effect of training and growth hormone suppression on insulin-like growth factor I mRNA in young rats, **J Appl Physiol**, v. 76, p. 2204–2209, 1994.

ZECCHIN, K. G. et al. Conventional x-ray densitometry detects osteopenia in ovariectomized young rats. Short communication, **Braz J Oral Sci**, v. 3, n. 8, p. 425-7, 2004.

8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O método utilizado para indução ao diabetes, apesar de ser bem aceito na literatura, não consegue controlar a intensidade do estado diabético que é imposto a cada animal. Desta forma, o estudo sofre bastante com perdas amostrais devido às complicações provenientes da doença, visto que alguns animais ficam mais debilitados que outros após a indução.

Outra limitação decorre do fato de não se conseguir controlar o estresse adicional que é imposto aos animais diante do exercício físico ao qual estes são submetidos. O estresse do exercício, em alguns casos, pode debilitar ainda mais o estado clínico do animal diabético, levando a mortalidade e consequentemente, maior perda amostral nos grupos treinados.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O protocolo de natação empregado no presente estudo, apesar de não ter utilizado sobrecarga adicional, foi capaz de exercer estímulo suficiente para promover um aumento no módulo elástico dos fêmures de animais saudáveis, ou seja, um aumento na rigidez intrínseca do osso, representando uma importante vantagem biomecânica, pois o osso passa a suportar uma maior tensão mecânica sofrendo menor deformação na sua estrutura, traduzindo-se assim, em melhora na sua resposta biomecânica.

- Foi constatado que um período de 10 semanas de diabetes foi suficiente para gerar alteração na resposta biomecânica dos fêmures, visto que foi observada uma redução da força máxima e da tensão máxima nos ossos dos animais diabéticos em relação aos controles. No entanto, a utilização isolada de um protocolo de exercício de natação sem sobrecarga ou de um protocolo de exercício de resistência de salto livre com sobrecarga não foi eficiente em reverter os prejuízos biomecânicos à estrutura óssea de ratos diabéticos.

- O diabetes induzido por estreptozotocina promoveu efeitos deletérios na estrutura óssea, evidenciado pela redução na densidade óssea da cabeça femoral e do côndilo lateral do fêmur. As modalidades de exercício empregadas conseguiram aumentar a densidade óssea na região do côndilo lateral do fêmur dos animais diabéticos, representando um efeito osteogênico positivo dos exercícios aquáticos sobre uma área específica de osso trabecular.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. F. Efeitos do treinamento físico sobre a resistência mecânica do terço proximal do fêmur de ratos. **Acta Ortop Bras**, v. 18, n. 5, p.245-9, 2010.

AGUILÓ, A. et al. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. **Physiol Behav**, v. 84, p. 1-7, 2005.

AHMED, L. A. et al. Diabetes mellitus and the risk of nonvertebral fractures: the Tromso study. **Osteoporos Int**, v. 17, p. 495-500, 2006.

AKTURK, M. et al. Evaluation of Achilles tendon thickening in type 2 diabetes mellitus. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 115, n. 2, p. 92-6, 2007.

AKTURK, M. et al. Thickness of the supraspinatus and biceps tendons in diabetic patients. **Diabetes Care**, v. 25, n. 2, p. 408, 2002.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, s. 1, p.S81-90, 2014.

ANDREOLI, A. et al. Effects of different sports on bone density and muscle mass in highly trained athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 4, p. 507-11, 2001.

ATALAY, M.; LAAKSONEN, D. E. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. **J Sports Sci Med**, v. 1, p. 1-14, 2002.

BAI, X. C. et al. Oxidative stress inhibits osteoblastic differentiation of bone cells by ERK and NF-kappaB. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 314, p. 197–207, 2004.

BEZERRA, M. A. et al. Biomechanical and structural parameters of tendons in rats subjected to swimming exercise. **Int J Sports Med**, v. 34, n. 12, p. 1070-3, 2013

BIKLE, D. D. et al. The impact of skeletal unloading on bone formation. **Gravit Space Biol Bull**, v. 16, p. 45-54, 2003.

BOLTON, N. R. et al. Computed tomography to visualize and quantify the plantar aponeurosis and flexor hallucis longus tendon in the diabetic foot. **Clin Biomech** (Bristol, Avon), v.20, n. 5, p. 540-6, 2005.

BOUILLON, R. Diabetic bone disease. **Calcif Tissue Int**, v. 49, p. 155–160, 1991.

BOURRIN, S. et al. Physical exercise during remobilization restores a normal bone trabecular network after tail suspension-induced osteopenia in young rats. **J Bone Miner Res**, v. 10, p. 820-8, 1995.

BROTMAN, D. J.; GIROD, J. P. The metabolic syndrome: A tug-of-war with no winner. **Clin J Sport Med**, v. 69, n.12, p.990-994, 2002.

CADORE, E. L.; BRENTANO, M. A.; KRUEL, L. F. M. Efeitos da atividade física na densidade mineral óssea e na remodelação do tecido ósseo. **Rev Bras Med Esporte**, v. 11, n. 6, p. 373-379, 2005.

CARVALHO, E. N.; CARVALHO, N. A. S.; FERREIRA, L. M. Modelo experimental de indução do *diabetes mellitus* em ratos. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. **Acta Cir Bras**, São Paulo, v. 18, 2003.

CHANG, F. L. et al. The effects of different endurance training intensity on systematic and peripheral citrate synthase activity. **Med Sci Sports Exerc**, v.33. p. 295, 2001.

CHEN, R.M. et al. 2,6-diisopropylphenol protects osteoblasts from oxidative stress-induced apoptosis through suppression of caspase-3 activation. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1042, p. 448–59, 2005.

CULLEN, D. M.; SMITH, R. T.; AKHTER, M. P. Bone-loading response varies with strain magnitude and cycle number. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1971–1976, 2001.

DALL'AGO, P. et al. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 7, p. 843-849. 2002.

DIXIT, P. K.; EKSTRÖM, R. A. Decreased breaking strength of diabetic rat bone and its improvement by insulin treatment. **Calcif Tissue Int**, v. 32, p. 195-199, 1980.

DE ANGELIS, K. et al. Efeitos Fisiológicos do Treinamento Físico em Pacientes Portadores de Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 6, p. 1005-1013, 2006.

ELHABASHY, S. A. *et al*. Effect of Physical Exercise on Bone Density and Remodeling in Egyptian Type 1 Diabetic Osteopenic Adolescents, **Diabetol Metab Syndr**, v. 3, n. 25, 2011.

EINHORN, T. A. et al. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes. **J Orthop Res**, v. 6, n. 3, p. 317-23, 1988.

ERDAL, N. et al. The effect of insulin therapy on biomechanical deterioration of bone in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes mellitus in rats. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 97, p. 461-467, 2012.

ERDAL, N. et al. Deterioration of Bone Quality by Streptozotocin (STZ)-Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Rats, **Biol Trace Elem Res**, v. 140, p. 342–353, 2011.

ESTEVES, A. C. F. et al. A natação minimiza o retardo no crescimento somático e ósseo de ratos? **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, p. 368-372, 2010.

FOLLAK, N. et al. Improving Metabolic Control Reverses the Histomorphometric and Biomechanical Abnormalities of an Experimentally Induced Bone Defect in Spontaneously Diabetic Rats, **Calcif Tissue Int**, v. 74, p. 551-560, 2004.

FOLLAK, N. et al. Histomorphometric evaluation of the influence of the diabetic metabolic state on bone defect healing depending on the defect size in spontaneously diabetic BB/OK rats. **Bone**, v. 35, p. 144-152, 2004.

FORSÉN, L. et al. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: Results from the Nord-Trøndelag Health Survey. **Diabetologia**, v. 42, p. 920-925, 1999.

FORWOOD, M. R.; TURNER, C. H. Skeletal adaptations to mechanical usage: results from tibial loading studies in rats. **Bone**, v. 17, p. 197S–205S, 1995.

FREITAS, J. S. et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, p. 134-138, 2010.

FROST, H. M. Vital biomechanics: proposed general concepts for skeletal adaptations to mechanical usage. **Calcif Tissue Int**, v. 42, p. 145-156, 1988.

GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, p. 21-27, 2001.

GOMES, R. J. et al. Effects of swimming training on bone Mass and the GH/IGF-1 axis in diabetic rats, **Growth Horm IGF Res**, v. 16, p. 326–331, 2006.

GOODMAN, W. G.; HORI, M. T. Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization. **Diabetes**, v. 33, p. 825-31, 1984.

GOPALAKRISHNAN, V. et al. Effects of glucose and its modulation by insulin and estradiol on BMSC differentiation into osteoblastic lineages. **Biochem Cell Biol**, v. 84, p. 93-101, 2006.

GROSS, J. L.; NEHME, M. Detecção e tratamento das complicações crônicas do diabetes melito: Consenso da Sociedade Brasileira de Diabetes e Conselho Brasileiro de Oftalmologia. **Rev Ass Med Brasil**, v. 45, n. 3, p. 279-84, 1999.

HAMADA, Y. et al. Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. **Bone**, v. 45, Suppl 1, p. S35-8, 2009.

HART, K. J. et al. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1663-8, 2001.

HEIN G., et al. Advanced glycation end product modification of bone proteins and bone remodelling: hypothesis and preliminary immunohistochemical findings. **Ann Rheum Dis**, v. 65, p. 101–104, 2006.

HEIN G., et al. Advanced glycation end-products pentosidine and N epsilon-carboxymethyllysine are elevated in serum of patients with osteoporosis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 42, p. 1242–1246, 2003.

HEINONEN, A. et al. High-impact exercise and bones of growing girls: a 9-month controlled trial. **Osteoporos Int**, v. 11, p. 1010-7, 2000.

HONDA, A. et al. High-impact exercise strengthens bone in rats ovariectomized with the same outcome as Sham rats. **J Appl Physiol**, v. 95, p. 1032-72, 2003.

HORCAJADA-MOLTENI, M-N. et al. Amylin and Bone Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **J Bone Miner Res**, v. 16, n. 5, 2001.

HOSHI, A. et al. Bone density and mechanical properties in femoral bone of swim loaded age mice. **Biomed Environ Sci**, v. 11, p. 243–250, 1998.

HOU, J. C-H.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, J. Effects of severe diabetes and insulin on the femoral neck of the immature rat. **J Orthop Res**, v. 11, p. 263-271, 1993.

HOU, J. C-H.; ZERNICKE, R. F.; BARNARD, J. Experimental diabetes, insulin treatment, and femoral neck morphology and biomechanics in rats. **Clin Orthop Relat Res**, v. 264, p. 278-285, 1991.

HOUGH, S. et al. Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. **Endocrinology**, v. 108, p. 2228– 34, 1981.

HUANG, H. H. et al. Exercise Increases Insulin Content and Basal Secretion in Pancreatic Islets in Type 1 Diabetic Mice. **Exp Diabetes Res**, v. 2011, Article ID 481427, 10 pages, 2011.

HUANG, T. H. et al. Swimming Training Increases the Post-Yield Energy of Bone in Young Male Rats. **Calcif Tissue Int**, v. 86, p. 142–153, 2010.

HUANG, T. H. et al. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone, **J Appl Physiol**, v. 95, p. 300–307, 2003.

HUI, S. L.; EPSTEIN, S.; JOHNSTON, C. C. A prospective study of bone mass in patients with type 1 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 60, p. 74–80, 1985.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**. 6ª edição, 2013. Versão online disponível em: www.idf.org/diabetesatlas.

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

JI, L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 222, p. 283– 92, 1999.

JIANG, Y. et al. Perspectives on bone mechanical properties and adaptive response to mechanical challenge. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 2, p. 423-433, 1999.

KALU, D. N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. **Bone Miner**, v. 15, p. 175-92, 1991.

KATAYAMA, Y. et al. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. **J Bone Miner Res**, v. 11, p. 931-7, 1996.

KELLEY, G. A.; KELLEY, K. S. Efficacy of resistance exercise on lumbar spine and femoral neck bone mineral density in premenopausal women: a meta-analysis of individual patient data. **J Womens Health (Larchmt)**, v. 13, n. 3, p. 293-300, 2004.

KELLEY, G. A.; KELLEY, K. S.; TRAN, Z. V. Resistance training and bone mineral density in women: a meta-analysis of controlled trials. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 80, n. 1, p. 65-77, 2001.

KEMINK, S. A. et al. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus: Prevalence and aspects of pathophysiology. **J Endocrinol Invest**, v. 23, p. 295–303, 2000.

KEMMLER, W. et al. Exercise effects on fitness and bone mineral density in early postmenopausal women: 1-year EFOPS results. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, p. 2115-23, 2002.

KORRES, N. et al. Biomechanical characteristics of bone in streptozotocin-induced diabetic rats: An in-vivo randomized controlled experimental study, **World J Orthop**, v. 4, n. 3, p. 124-129, 2013.

KUNG, A. W.; NG, F. A. A rat model of thyroid hormone-induced bone loss: effect of antiresorptive agents on regional bone density and osteocalcin gene expression. **Thyroid**, v. 4, p. 93-8, 1994.

KUPFER, S. R. et al. Enhancement of the anabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I by use of both agents simultaneously. **J Clin Invest**, v. 91, p. 391–396, 1993.

LEE, D. M. et al. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins prior to, during, and after correction of diabetic ketoacidosis. **J Diabetes Complications**, v. 16, p. 294-300, 2002.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos: estudo clínico e laboratorial. **Acta Cir Bras**, v. 18, n. 2, p. 132-42, 2003.

LIU, C. C.; KALU, D. N. Human parathyroid hormone-(1-34) prevents bone loss and augments bone formation in sexually mature ovariectomized rats. **J Bone Miner Res**, v. 5, p. 973-82, 1990.

LOPEZ-IBARRA, P. J. et al. Bone mineral density at time of clinical diagnosis of adult-onset type 1 diabetes mellitus. **Endocr Pract**, v. 7, p. 346–351, 2001.

LOUZADA, M. J. Q.; BELANGERO, W. D.; MARTINS, L. E. D. Avaliação de parâmetros biomecânicos pela densitometria radiográfica. Estudo “in vitro” em osso cortical de tíbias de carneiros. **Brazilian Journal of Biomechanics**, n. 12, p. 33-38, 2006.

LOUZADA, M. J. Q. et al. Densitometria óptica radiográfica em análise da densidade óssea em mandíbulas de coelhos castrados. **Rev Fac Odontol Lins**, v. 13, n. 1, p. 33-8, 2001.

LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Rev Paul Educ Fís**, v. 12, n. 2, p. 202-9, 1998.

MACEY, L.R. et al. Defects of early fracture-healing in experimental diabetes. **J Bone Joint Surg Am**, v. 71, p. 722-733, 1989.

MACHADO, L. H. A. et al. Avaliação da reabsorção óssea de membros torácicos pela técnica de densitometria ópitica em imagens radiográficas no hiperparatireoidismo renal canino. **Vet Zootec**, v. 16, n. 2, p. 325-34, 2009.

MAGGIO, A. B. R. et al. Physical Activity Increases Bone Mineral Density in Children with Type 1 Diabetes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 7, p. 1206–1211, 2012.

MAINARDES, K. C. et al. Effect of diabetes associated to aging in the consolidation of fractures in the tibia of rats. **Rev Bras Ortop**, v. 42, n. 3, p. 55-63, 2007.

MANAIA, C. N. **Estudo da fragilidade em fêmures de ratos diabéticos pela análise densitométrica e biomecânica.** 2009. (Dissertação de mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba - SP, 2009.

MANCINI, L. et al. The biphasic effects of nitric oxide in primary rat osteoblasts are cGMP dependent. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 274, n. 2, p. 477-81, 2000.

MARCUS, R. Role of exercise in preventing and treating osteoporosis. **Osteoporosis**. v. 27, p. 131-139, 2001.

MATTILA, P. T.; KNUUTTILA, M. L. E.; SVANBERG, M. D. Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin-diabetic rats. **Metabolism**, v.47, n.5, p. 578-583, 1998.

MCCABE, L. R. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. **J Cell Biochem**, v. 102, p. 1343-57, 2007.

McNAIR, P. et al. Bone loss in diabetes: effects of metabolic state. **Diabetologia**, v. 17, n. 5, p. 283-6, 1979.

MELTON, S. A. et al. Water exercise prevents femur density loss associated with ovariectomy in the retired breeder rat. **J Strength Cond Res**, v. 18, n. 3, p. 508-512, 2004.

MENKES, A. et al. Strength training increases regional bone mineral density and bone remodeling in middle-aged and older men. **J Appl Physiol**, v. 74, p. 2478-84, 1993.

MERLOTTI, D. et al. Mechanisms of impaired bone strength in type 1 and 2 diabetes. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 20, p. 683-690, 2010.

MEURER, M. I. et al. Análise da densidade óssea em região parassinfisária de mandíbulas humanas: comparação entre níveis de cinza em radiografias digitais (Sistema Digora) e unidades Hounsfield, **Rev Odonto Ciência**, v. 18, n. 40, p. 179-86, 2003.

MIAO, J. et al. Elevated hip fracture risk in type 1 diabetic patients: a population-based cohort study in Sweden. **Diabetes Care**, v. 28, p. 2850–2855, 2005.

MIAZGOWSKI, T. et al. Bone mineral density and hip structural analysis in type 1diabetic men. **Eur J Endocrinol**, v. 156, p. 123-127, 2007.

MODY, N. et al. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. **Free Radic Biol Med**, v. 31, p. 509–19, 2001.

MOSLEY, J. R.; LANYON, L. E. Growth Rate Rather Than Gender Determines the Size of the Adaptive Response of the Growing Skeleton to Mechanical Strain. **Bone**, v. 30, p. 314-319, 2002.

MOTYL, K.; MCCABE, L. R. Streptozotocin, Type I Diabetes Severity and Bone. **Biol Proced Online**, v. 11, n. 1, p. 296-315, 2009.

NAKAO, C. et al. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzimes in mouse tissues. **J Appl Physiol**, 88, 649-54, 2000.

NAZIROGLU, M.; BUTTERWORTH, P. J. Protective Effects of Moderate Exercise With Dietary Vitamin C and E on Blood Antioxidative Defense Mechanism in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. **Can J Appl Physiol**, v. 30, n. 2, p. 172-185, 2005.

NAZIROGLU, M. et al. The effects of hormone replacement therapy combined with vitamins C and E on antioxidant levels and lipid profiles in postmenopausal women with type 2 diabetes. **Clin Chem Acta**, v. 344, p. 63-71, 2004.

NAZIROGLU, M.; CAY, M. Protective role of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on the antioxidative defense mechanism in rats with diabetes induced streptozotocin. **Biol Trace Elem Res**, v. 79, p. 149-159, 2001.

NERY, C.S. **Avaliação do treino aeróbio de natação sobre as propriedades biomecânicas do tendão de calcâneo de ratos com diabetes experimental.** 2013. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2013.

NICODEMUS, K. K.; FOLSON, A. R. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 24, p. 1192-1197, 2001.

NIEHOFF, A. et al. Adaptation of mechanical, morphological, and biochemical properties of the rat growth plate to dose-dependent voluntary exercise. **Bone**, v. 35, p. 899– 908, 2004.

NOTOMI, T. et al. A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of bone in growing rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 83, p. 469-474, 2000.

ODETTI, P. et al. Advanced glycation end products and bone loss during aging. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1043, p. 710-717, 2005.

OLIVEIRA, R. R. et al. Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, v. 26, p. 163–168, 2012.

OLIVEIRA, R. R. et al. Mechanical properties of achilles tendon in rats induced to experimental diabetes. **Ann Biomed Eng**, v. 39, n. 5, p. 1528-1534, 2011.

OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 8, n. 6, p. 219-224, 2002.

PASTOUREAU, P.; CHOMEL, A.; BONNET, J. Specific Evaluation of Localized Bone Mass and Bone Loss in the Rat using Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Subregional Analysis. **Osteoporosis Int**, v. 5, p. 143-149, 1995.

PAULI, J. R. et al. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 4, p. 399-408, 2009.

PRISBY, R. D. et al. Altered bone mass, geometry and mechanical properties during the development and progression of type 2 diabetes in the Zucker diabetic fatty rat. **J Endocrinol**, v. 199, p. 379-388, 2008.

REDDY, G. K. et al. The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 54, n. 1, p. 1-8, 2001.

RENNO, A. C. M. et al. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. **Acta Ortop Bras**, v. 15, n. 5, p. 276-279, 2007.

ROBLING, A. G. et al. Shorter, more frequent mechanical loading sessions enhance bone mass. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, p. 196-202, 2002.

ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Rev Bras Ativ Fís Saúde**, v. 2, p. 39-46, 2001.

ROGATTO, G. P. **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros endócrino-metabólicos relacionados ao estresse** [Dissertação de mestrado]. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 2001.

ROZADILLA, A. et al. Bone mineral density in patients with type 1 diabetes mellitus. **Joint Bone Spine**, v. 67, p. 215–218, 2000.

RUSSO, C. R. The effects of exercise on bone. Basic concepts and implications for the prevention of fractures. **Clin Cas Miner Bone Metab**, v. 6, p. 223-228, 2009.

SATO, K. et al. Bone histomorphometric study in biopsied iliac bone in diabetic patients. **J Bone Miner Res**, v. 4, p. 206–211, 1987.

SCHWARTZ, A. V. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? **Calcif Tissue Int**, v. 73, p. 515–519, 2003.

SHIGUEMOTO, G. E. et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scand J Med Sci Sports**, v. 22, p. 607–617, 2012.

SHIRES, R. et al. The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat. **J Lab Clin Med**, v. 97, p. 231-240, 1981.

SILVA, M. J. et al. Type 1 diabetes in young rats leads to progressive trabecular bone loss, cessation of cortical bone growth, and diminished whole bone strength and fatigue life. **J Bone Miner Res**, v. 24, n. 9, p. 1618–27, 2009.

SILVA, A. R. S. et al. Análise da densidade óssea radiográfica de ratos submetidos ao alcoolismo crônico utilizando imagem digital. **Rev Odonto Ciência**, v. 22, n. 55, p. 77-81, 2007.

SNYDER, A. et al. The effects of exercise mode, swimming vs. running, upon bone growth in the rapidly growing female rat. **Mech Ageing Dev**, v. 66, p. 59-69, 1992.

STEPAN, J. J. et al. Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. **Bone**, v. 8, p. 279-84, 1987.

STOKES, K. Growth hormone responses to sub-maximal and sprint exercise. **Growth Horm IGF Res**, v. 13, p. 225–238, 2003.

SWISSA-SIVAN, A. et al. The effect of swimming n bone modeling and composition in young adult rats. **Calcif Tissue Int**, v. 47, p. 173–177, 1990.

SWISSA-SIVAN, A. et al. Effect of swimming on bone growth and development in young rats. **Bone Miner**, v. 7, p. 91-105, 1989.

THRAILKILL, K. M. et al. Bone Formation Is Impaired in a Model of Type 1 Diabetes. **Diabetes**, v. 54, p. 2875–2881, 2005.

TSUKAHARA, N. et al. Cross-sectional and longitudinal studies on the effect of water exercise in controlling bone loss in Japanese postmenopausal women. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 40, n. 1, p. 37-47, 1994.

TURNER, C. H.; TAKANO, Y.; OWAN, I. Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. **J Bone Miner Res**, v. 10, p. 1544–1549, 1995.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, p. 41-54, 2003.

VAL, F. F. A. et al. Efeito de regimes de treinamento físico de alto impacto nas propriedades mecânicas de ossos: estudo experimental em ratas wistar. **Rev Bras Med Esporte**, v. 19, n. 4, p. 252-255, 2013.

VALERIO, G. et al. The lumbar bone mineral density is affected by long-term poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Horm Res**, v. 58, p. 266–272, 2002.

VAN DER MEULEN, M. C. H. et al. Cancellous bone adaptation to in vivo loading in a rabbit model. **Bone**, v. 38, p. 871–877, 2006.

VERHAEGHE, J. et al. The effects of systemic insulin, insulin-like growth factor-I and growth hormone on bone growth and turnover in spontaneously diabetic BB rats. **J Endocrinol**, v. 134, p. 485–492, 1992.

VERHAEGHE, J. et al. Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes: Decreased bone turnover and osteoporosis. **Diabetes**, v. 39, p. 477-482, 1990.

VERHAEGHE, J. et al. Effects of exercise and disuse on bone mass, and biochemical competence in spontaneously diabetic female rats. **Bone**, v. 27, p. 249-256, 2000.

VESTERGAARD, P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes: a metaanalysis. **Osteoporos Int**, v. 18, p. 427–444, 2007.

WALLACE, J. M. et al. Exercise-induced changes in the cortical bone of growing mice are bone- and gender-specific. **Bone**, v. 40, p. 1120–1127, 2007.

WARNER, S. E. et al. Adaptations in cortical and trabecular bone in response to mechanical loading with and without weight bearing. **Calcif Tissue Int**, v. 79, p. 395-403, 2006.

WAUQUIER, F. et al Oxidative stress in bone remodelling and disease. **Trends Mol Med**, v.15, n. 10, p. 468-77, 2009.

WEI, W. et al. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. **Hemoglobin**, v. 33, n. 5, p. 370-7, 2009.

WRONSKI, T. J. et al. Long term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. **Calcif Tissue Int**, v. 45, p. 360-6, 1989.

YAMAGISHI, S.; NAKAMURA, K.; INOUE, H. Possible participation of advanced glycation end products in the pathogenesis of osteoporosis in diabetic patients. **Medical Hypotheses**, v. 65, p. 1013–1015, 2005.

ZANCONATO, S. et al. Effect of training and growth hormone suppression on insulin-like growth factor I mRNA in young rats, **J Appl Physiol**, v. 76, p. 2204–2209, 1994.

ZECCHIN, K. G. et al. Conventional x-ray densitometry detects osteopenia in ovariectomized young rats. Short communication, **Braz J Oral Sci**, v. 3, n. 8, p. 425-7, 2004.

ZHANG, L. et al. Bone biomechanical and histomorphometrical investment in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. **Acta Diabetol**, v. 46, p. 19-126, 2009.

ZISSER, H. et al. Exercise and diabetes. **Int J Clin Pract Suppl**, v. 170, p. 71-5, 2011.

APÊNDICES

Apêndice A – Publicação Paralela (Artigo Completo Publicado em Periódico)

Review DOI: 10.5604/20831862.1019661 Biol. Sport 2012;29:3-8

DOES AEROBIC EXERCISE TRAINING PROMOTE CHANGES IN STRUCTURAL AND BIOMECHANICAL PROPERTIES OF THE TENDONS IN EXPERIMENTAL ANIMALS? A SYSTEMATIC REVIEW

Accepted for publication 18.07.2012

AUTHORS: Bezerra M.A.[1], Lemos A.[2], Lira K.D.S.[1], Silveira P.V.C.[1], Coutinho M.P.G.[3], e Moraes S.R.A.[4]

[1] Master in Physiotherapy. Federal University of Pernambuco – UFPE, Brazil
[2] Physiotherapy Department of the Federal University of Pernambuco – UFPE, Brazil
[3] Federal University of Pernambuco – UFPE, Brazil
[4] Anatomy Department of the Federal University of Pernambuco – UFPE, Brazil

Reprint request to:
Márcio Almeida Bezerra
Rua João Julião Martins 179
58.429-015 Campina Grande PB – Brazil
Telefone +55 83 3333 2995
Cell phone +55 83 9352 3204
E-mail: marcioalmeidabezerra@gmail.com

ABSTRACT: To develop a systematic review to evaluate, through the best scientific evidence available, the effectiveness of aerobic exercise in improving the biomechanical characteristics of tendons in experimental animals. Two independent assessors conducted a systematic search in the databases Medline/PUBMED and Lilacs/BIREME, using the following descriptors of Mesh in animal models. The ultimate load of traction and the elastic modulus tendon were used as primary outcomes and transverse section area, ultimate stress and tendon strain as secondary outcomes. The assessment of risk of bias in the studies was carried out using the following methodological components:

Apêndice B – Publicação Paralela (Artigo Completo Publicado em Periódico)

TREINO MODERADO DE CORRIDA CAUSA ALTERAÇÕES NAS PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DO CALCÂNEO?[1]

MS. RODRIGO RIBEIRO DE OLIVEIRA
Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará
(Fortaleza – Ceará – Brasil)
E-mail: rodrigo@ufc.br

MS. MÁRCIO ALMEIDA BEZERRA
Bacharelado em Fisioterapia, Faculdade de Integração do Sertão; Litoral Serviços Médicos
(Recife – Pernambuco – Brasil)
E-mail: marcioalmeidabezerra@gmail.com

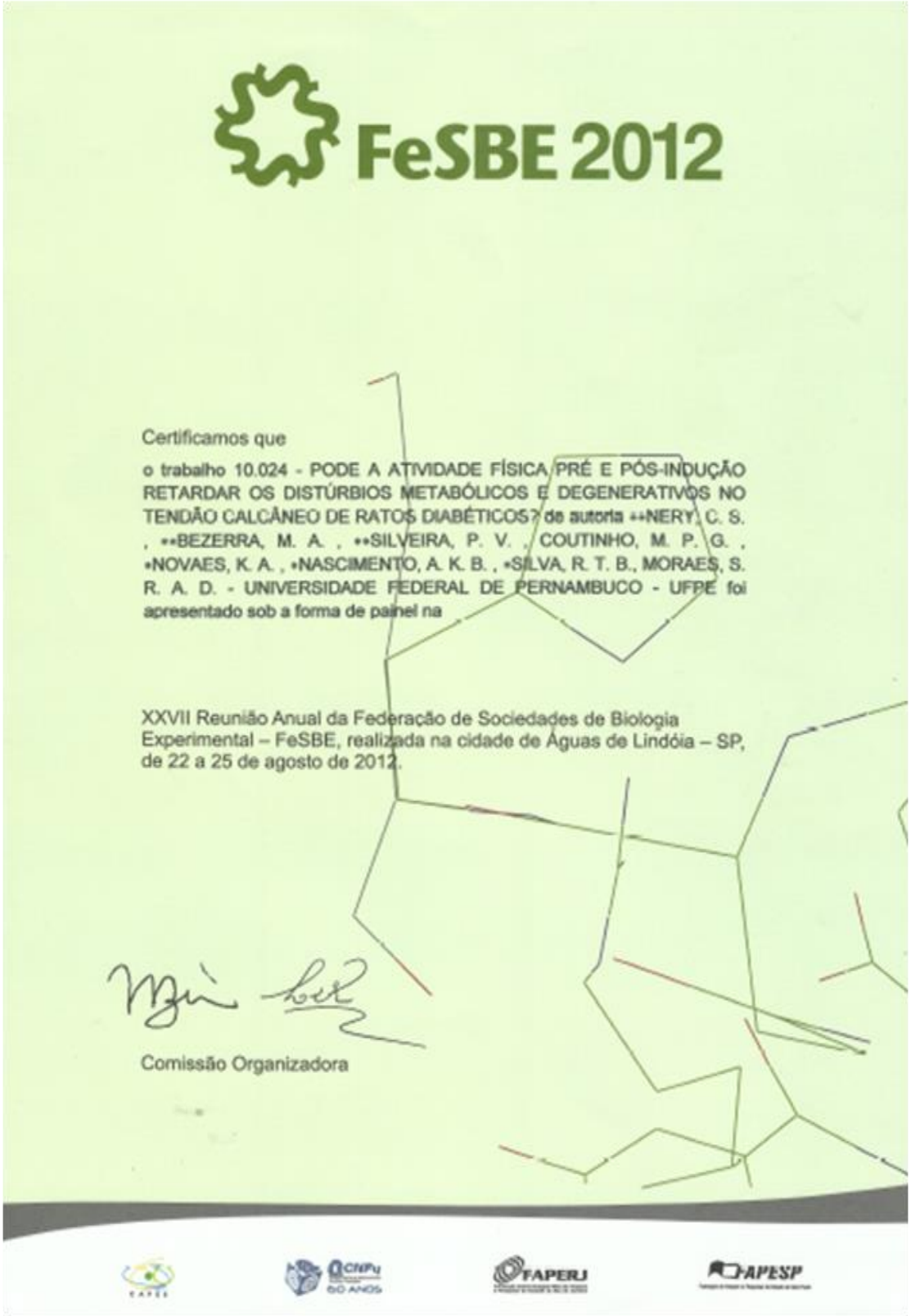
GRAD. PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA
Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco
(Recife – Pernambuco – Brasil)
E-mail: pativercoza@hotmail.com

GABRIEL NUNES DE MESQUITA
Curso de Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco
(Recife – Pernambuco – Brasil)
E-mail: gabriel_aiki@hotmail.com

MS. MAGNO FELIPE HOLANDA BARBOZA INÁCIO TEIXEIRA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química,
Universidade Federal de Pernambuco (Recife – Pernambuco – Brasil)
E-mail: maxd@bol.com.br

1. O estudo foi apoiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). O estudo foi desenvolvido a partir de recursos provenientes do projeto de pesquisa CNPq/Universal nº 477096/2008-5. Agradecemos aos conhecimentos compartilhados e a colaboração da Profª Yeda Medeiros Bastos de Almeida do Laboratório de Materiais Poliméricos e Caracterização do Departamento de Engenharia Química da UFPE e do Prof. Daniel Lambertz do Laboratório de Biomecânica do Departamento de Nutrição da UFPE.

Apêndice C – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)



FeSBE 2012

Certificamos que

o trabalho 10.024 - PODE A ATIVIDADE FÍSICA PRÉ E PÓS-INDUÇÃO RETARDAR OS DISTÚRBIOS METABÓLICOS E DEGENERATIVOS NO TENDÃO CALCÂNEO DE RATOS DIABÉTICOS? de autoria **NERY, C. S. , **BEZERRA, M. A. , **SILVEIRA, P. V. , COUTINHO, M. P. G. , *NOVAES, K. A. , *NASCIMENTO, A. K. B. , *SILVA, R. T. B., MORAES, S. R. A. D. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE foi apresentado sob a forma de painel na

XXVII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, realizada na cidade de Águas de Lindóia – SP, de 22 a 25 de agosto de 2012.

Comissão Organizadora

Apêndice D – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

FeSBE 2012

Certificamos que

o trabalho 10.021 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM TREINAMENTO DE NATAÇÃO SOBRE A RESPOSTA BIOMECÂNICA DE FÊMURES DE RATOS de autoria *AMARAL, M. V. F. , **BEZERRA, M. A. , *MESQUITA, G. N. , **LIRA, K. D. S. , NERY, C. S. , **SILVEIRA, P. V. , *NOVAES, K. A. , *SILVA, R. T. B., MORAES, S. R. A. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE foi apresentado sob a forma de painel na

XXVII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, realizada na cidade de Águas de Lindóia – SP, de 22 a 25 de agosto de 2012.

Comissão Organizadora

CAPES CNPq 60 ANOS FAPERJ FAPESP

Apêndice E – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

DIABETES 2013
XIX CONGRESSO
da Sociedade Brasileira de Diabetes
9 a 11.outubro.2013 | FLORIANÓPOLIS | SC

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DE DUAS MODALIDADES DE EXERCÍCIO AQUÁTICO SOBRE A RESPOSTA BIOMECÂNICA DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE RATOS DIABÉTICOS

de autoria de PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA; CYBELLE DA SILVA NERY; DENIELE BEZERRA LÓS; RAFAEL DORNELAS E SILVA; ANNA KAROLLYNA DE BRITO NASCIMENTO; HIANNY RADANA DANTAS DE BRITO; KAMILLA DINAH SANTOD DE LIRA; SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES foi apresentado na modalidade TEMAS LIVRES - PÔSTERES.

Florianópolis, 11 de outubro de 2013

Balduíno Tschiedel
Presidente da SBD

Luiz Antônio de Araújo
Presidente do Congresso

Amely Pereira Silva Balthazar
Presidente da Comissão Científica Local
Presidente da SBD-SC

Apoio

MERCK SERONO

Apêndice F – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

DIABETES 2013
XIX CONGRESSO
da Sociedade Brasileira de Diabetes
9 a 11.outubro.2013 | FLORIANÓPOLIS | SC

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

O EXERCÍCIO FÍSICO DE NATAÇÃO MELHORA O DESEMPENHO BIOMECÂNICO DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE RATOS COM DIABETES EXPERIMENTAL?

de autoria de CYBELLE DA SILVA NERY; PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA; MÁRCIO ALMEIDA BEZERRA; KARYNE ALBINO NOVAES; THAINÁ DE GOMES FIGUEIREDO; DIEGO SANTOS DE OLIVEIRA; ANA CRISTINA FALCÃO ESTEVES; SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES foi apresentado na modalidade TEMAS LIVRES - PÔSTERES.

Florianópolis, 11 de outubro de 2013

Baldwino Tschiedel
Presidente da SBD

Luiz Antônio de Araújo
Presidente do Congresso

Amely Pereira Silva Balthazar
Presidente da Comissão Científica Local
Presidente da SBD-SC

Apoio

MERCK SERONO

Apêndice G – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

CERTIFICADO

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES

DIABETES 2013
XIX CONGRESSO
da Sociedade Brasileira de Diabetes
9 a 11.outubro.2013 | FLORIANÓPOLIS | SC

Certificamos que o trabalho

EXERCÍCIO DE SALTO EM MEIO AQUÁTICO PODE SER ÚTIL PARA RESTABELECER AS PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE RATOS DIABÉTICOS?

de autoria de RAISSA THAIS BELARMINO DA SILVA; FILIPE BARBOSA CUNHA DE MIRANDA; BRUNA SOARES TEIXEIRA DE ARAÚJO; PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA; CYBELLE DA SILVA NERY; ANNA KAROLLYNA DE BRITO NASCIMENTO; MAGNO FELIPE HOLANDA BARBOZA INÁCIO TEIXEIRA; SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES foi apresentado na modalidade TEMAS LIVRES - PÔSTERES.

Florianópolis, 11 de outubro de 2013

Balduino Tschiedel
Presidente da SBD

Luiz Antônio de Araújo
Presidente do Congresso

Amely Pereira Silva Balthazar
Presidente da Comissão Científica Local
Presidente da SBD-SC

Apoio

MERCK SERONO

Apêndice H – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

CERTIFICADO

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES

DIABETES 2013
XIX CONGRESSO
da Sociedade Brasileira de Diabetes
9 a 11.outubro.2013 | FLORIANÓPOLIS | SC

Certificamos que o trabalho

REPERCUSSÃO DO EXERCÍCIO DE NATAÇÃO SEM CARGA SOBRE A RESPOSTA BIOMECÂNICA DO FÊMUR DE RATOS COM DIABETES EXPERIMENTAL

de autoria de ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO; PATRÍCIA VERÇOZA DE CASTRO SILVEIRA; MARCOS PAULO GALDINO COUTINHO; GABRIEL NUNES DE MESQUITA; MARCOS VINICIUS FALCÃO AMARAL; MÁRCIO ALMEIDA BEZERRA; IZABELLE MARIE TRINDADE BEZERRA; SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES foi apresentado na modalidade TEMAS LIVRES - PÔSTERES.

Florianópolis, 11 de outubro de 2013

Balduino Tschiedel
Presidente da SBD

Luiz Antônio de Araújo
Presidente do Congresso

Amely Pereira Silva Balthazar
Presidente da Comissão Científica Local
Presidente da SBD-SC

Apoio

MERCK SERONO

Apêndice I – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

VI CONGRESSO BRASILEIRO DA SOCIEDADE NACIONAL DE FISIOTERAPIA ESPORTIVA
IV Congresso Internacional da
Sociedade Nacional de Fisioterapia Esportiva
VI Jornada Brasil Argentina de Fisioterapia Esportiva
I Feira de Fisioterapia Esportiva

10 anos SONAFE

14 a 17 de novembro de 2013
Centro de Convenções Rebouças - São Paulo - SP

Promoção:
SOCIEDADE NACIONAL DE FISIOTERAPIA ESPORTIVA
SONAFE Brasil

CERTIFICADO

O trabalho **REPERCUSSÃO DO TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE AS PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE RATOS.**

Foi apresentado na forma de **Pôster**, durante o **VI Congresso Brasileiro da Sociedade Nacional de Fisioterapia Esportiva, IV Congresso Internacional da SONAFE, VI Jornada Brasil Argentina e I Feira de Fisioterapia Esportiva**, tendo como autores: **Bruna Soares Teixeira de Araujo ; Raissa Thais Belarmino da Silva ; Patrícia Verçoza de Castro Silveira ; Ana Camila Nobre de Lacerda Brito ; Anna Karollyna de Brito Nascimento ; Sílvia Regina Arruda de Moraes.**

São Paulo, 17 de Novembro de 2013.

Felipe Tadiello
Presidente Sonafe 2012-2013

Marcelo Bannwart Santos
Presidente do Congresso

Apêndice J – Publicação Paralela (Resumo Publicado em Anais de Congresso)

VI CONGRESSO BRASILEIRO DA SOCIEDADE NACIONAL DE FISIOTERAPIA ESPORTIVA
IV Congresso Internacional da
Sociedade Nacional de Fisioterapia Esportiva
VI Jornada Brasil Argentina de Fisioterapia Esportiva
I Feira de Fisioterapia Esportiva

10 anos SONAFE

14 a 17 de novembro de 2013
Centro de Convenções Rebouças - São Paulo - SP

Promoção:
SONAFE Brasil

CERTIFICADO

O trabalho **O EXERCÍCIO FÍSICO DE NATAÇÃO CONSEGUE OTIMIZAR O DESEMPENHO BIOMECÂNICO DO TENDÃO DO CALCÂNEO EM RATOS ?**

Foi apresentado na forma de **Pôster**, durante o **VI Congresso Brasileiro da Sociedade Nacional de Fisioterapia Esportiva, IV Congresso Internacional da SONAFE, VI Jornada Brasil Argentina e I Feira de Fisioterapia Esportiva**, tendo como autores: **Rafael Dornelas e Silva ; Cybelle da Silva Nery ; Patrícia Verçoza de Castro Silveira ; Hianny Radana Dantas de Brito ; Thainá de Gomes Figueiredo ; Silvia Regina Arruda de Moraes.**

São Paulo, 17 de Novembro de 2013.

Felipe Tadiello
Presidente Sonafe 2012-2013

Marcelo Bannwart Santos
Presidente do Congresso

ANEXOS

Anexo A – Aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 20 de fevereiro de 2013.

Ofício nº 542/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Silvia Regina Arruda de Moraes**
Departamento de Anatomia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.026692/2012-80

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"Comparação do efeito de duas modalidades diferentes de treinamento em meio aquático sobre a estrutura do fêmur e do tecido colágeno do tendão do calcâneo em ratos com diabetes experimental".**

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE; Animais: Ratos Wistar; Sexo: Machos; Número de animais previsto no protocolo: 60 ratos.

Atenciosamente,

Profa. Maria Teresa Jansem
Presidente do CEEA

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo B – Submissão do Artigo Original 1

Dr. (a) Patrícia Verçoza Silveira,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "RESPOSTA BIOMECÂNICA DO FÊMUR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À NATAÇÃO SEM SOBRECARGA" para Revista Brasileira de Medicina do Esporte. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:
http://submission.scielo.br/index.php/rbme/author/submission/134555
Login: pati_silveira

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Fernanda Colmatti
Revista Brasileira de Medicina do Esporte
Fernanda Colmatti / Arthur T. Assis
Atha Comunicação e Editora
Tel/Fax:55-11-5579-5308
Revista Brasileira de Medicina do Esporte
http://submission.scielo.br/index.php/rbme