

AÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FÊMURES E TÍBIAS DE RATAS OSTEOPÊNICAS

EFFECTS OF PHYSICAL ACTIVITY ON THE MECHANICAL PROPERTIES OF OSTEOPENIC FEMALE RATS' FEMURS AND TIBIAE

GUSTAVO SILVA ABRAHÃO¹, ANTÔNIO CARLOS SHIMANO², CELSO HERMÍNIO FERRAZ PICADO³

RESUMO

Avaliamos as propriedades mecânicas, obtidas através de ensaios de flexo-compressão de fêmures e de flexão em 3 pontos de tíbias, de ratas adultas, ovariectomizadas e submetidas à atividade física. Foram utilizadas 30 ratas divididas em 3 grupos: G1: Controle. G2: Animais ovariectomizados e não submetidos a exercícios. G3: Foram treinados em uma gaiola giratória por cinco dias consecutivos, em seguida submetidos à ovariectomia, permanecendo em repouso por 24 horas. Exercitaram por 30 minutos, 5 dias por semana durante 9 semanas com velocidade de aproximadamente 0,31 m/s. Os valores obtidos de carga e de deformação evidenciaram que os fêmures das ratas ovariectomizadas apresentaram redução estatisticamente significativa nas propriedades mecânicas de carga e de deformação no limite máximo. Os fêmures do grupo ovariectomizado e submetido à prática de exercícios apresentaram valores de carga e de deformação no limite máximo superiores aos do grupo apenas ovariectomizado, no entanto, sem significância estatística. As tíbias não apresentaram alterações significativas em nenhuma das propriedades mecânicas estudadas. A atividade física aplicada por 30 minutos, 5 dias por semana durante 9 semanas a 0,31 m/s não foi suficiente para corrigir as alterações biomecânicas do tecido ósseo provocadas pela ovariectomia.

Descritores: Biomecânica; Doença óssea; Metabolismo, Osteopenia, Ovariectomia, Atividade física.

Citação: Abrahão GS, Shimano GS, Shimano AC, Picado CHF. Ação da atividade física sobre as propriedades mecânicas dos fêmures e tíbias de ratas osteopênicas. *Acta Ortop Bras.* [periódico na Internet]. 2006; 14(5):242-245. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

SUMMARY

We evaluated the mechanical properties, obtained by means of flexion-compression assays in femurs and flexion assays on three tibial sites of ovariectomized adult female rats submitted to physical activity. Thirty rats were employed and divided into 3 groups: G1: Control. G2: Ovariectomized animals and not submitted to physical activity. G3: Animals trained in a spinning cage for five consecutive days, subsequently submitted to ovariectomy, and allowed to rest during 24 hours. The animals were submitted to physical activity for 30 minutes, 5 days a week, for a period of 9 weeks, at a speed of approximately 0.31 m/s. The values achieved for load and deformation evidenced that ovariectomized rats' femurs presented with a statistically significant reduction on load and deformation mechanical properties, at the maximum limit. Femurs in the group submitted to ovariectomy and physical activity presented with load and deformation values at maximum limit superior to those for the group submitted only to ovariectomy, however, with no statistical significance. The tibiae didn't present significant changes in any of the mechanical properties studied. Physical activity applied for 30 minutes, 5 days a week, during 9 weeks at 0.31 m/s was not enough to correct the biomechanical changes of bone tissue yielded by ovariectomy.

Keywords: Biomechanics; Bone diseases, Metabolic; Ovariectomy; Physical exercise.

Citation: Abrahão GS, Shimano GS, Shimano AC, Picado CHF. Effects of physical activity on the mechanical properties of osteopenic female rats' femurs and tibiae. *Acta Ortop Bras.* [serial on the Internet]. 2006; 14(5):242-245. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define a osteoporose como uma "doença esquelética sistêmica caracterizada por redução de massa e deterioração microarquitetural do tecido ósseo, com conseqüente aumento da fragilidade óssea e susceptibilidade à fratura"⁽¹⁾.

Após os quarenta anos de idade, a quantidade de reabsorção óssea supera a formação, levando à diminuição de 0,3% a 0,5% de conteúdo mineral por ano, tanto em mulheres no período pré-menopausa quanto em homens. Neste período ocorre uma pequena redução do conteúdo ósseo de regiões como a coluna vertebral, antebraço e medidas totais do corpo, mas uma elevada perda de massa óssea é encontrada na região proximal do fêmur. A perda acelerada de tecido ósseo é uma conseqüência constatada depois da menopausa (5% ao ano), em seguida a ovariectomia ou qualquer outro tipo de falência ovariana⁽²⁾.

A osteoporose é uma redução difusa da densidade óssea que sur-

ge quando a velocidade de reabsorção excede à de formação de osso. É a alteração metabólica mais freqüente acometendo ossos, caracterizando-se pela diminuição lenta e progressiva da massa, diminuindo sua resistência e propiciando o surgimento de fraturas dos ossos acometidos, mesmo com mínimos esforços⁽³⁾.

Após cessar a produção dos hormônios sexuais, a massa óssea da mulher diminui rapidamente nos primeiros 10 anos e lentamente nos anos subseqüentes⁽⁴⁾, havendo, a cada ciclo de remodelação, menor quantidade de osso formado e maior quantidade de osso reabsorvido⁽⁵⁾.

As conseqüências da osteoporose tornaram-na o maior problema de saúde pública da atualidade⁽⁶⁾.

A influência da atividade física na dinâmica do esqueleto e na prevenção da osteoporose tem provocado cada vez mais interesse. Os mecanismos pelos quais o esqueleto responde à atividade física ainda não estão totalmente elucidados. Existem, no entanto, evidências que demonstram o aumento da resistência óssea em

Trabalho realizado no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Endereço para correspondência: Rua Terezinha Campos Waack, 275 - Jd. Alexandre Campos Uberaba –MG - CEP: 38020-040 - e-mail: gustavoabrahao@yahoo.com.br

1. Mestre em Bioengenharia Interunidades Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos – USP.
Professor do Curso de Fisioterapia da Universidade de Uberaba.

2. Professor Doutor do Departamento de Biomecânica, Reabilitação e Medicina do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

3. Professor Doutor do Departamento de Biomecânica, Reabilitação e Medicina do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Trabalho recebido em 20/10/05 aprovado em 15/12/05

resposta à aplicação de cargas mecânicas e, em contrapartida, a diminuição da densidade mineral óssea (DMO), quando de sua ausência⁽⁷⁾.

A longo prazo, o exercício estimula a formação óssea⁽⁸⁾. Isso é resultado primariamente da absorção intestinal aumentada de cálcio, junto com a diminuição de sua excreção pela urina e com níveis aumentados de hormônio paratireoideiano (PTH). Ao contrário, a imobilização ou repouso completo promove diminuição óssea⁽⁹⁾.

Tem sido observado que atletas têm massa óssea maior do que indivíduos não atletas e a comparação entre populações ativas e sedentárias confirma uma expressiva correlação entre o nível de atividade física e a DMO. Além disso, nota-se que a inatividade física causa osteopenia, um exemplo disso é a conhecida osteopenia decorrente da imobilização de uma fratura⁽¹⁰⁾.

Tivemos como objetivo avaliar o efeito do exercício físico na prevenção da osteoporose induzida através da ovariectomia, comparando-se algumas propriedades mecânicas de fêmures e tíbias destas ratas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 30 ratas da raça *Rattus norvegicus albinus* da variedade *Wistar*, com idades entre 120 e 140 dias, apresentando peso corporal médio entre 360 e 390g. Estes animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos, os quais permaneceram em gaiolas de contenção. Os grupos foram caracterizados como G1: controle, com 10 animais apenas mantidos por 9 semanas em gaiolas de contenção; G2: constituído por 10 animais submetidos ao procedimento de ovariectomia; G3: onde 10 animais foram treinados em uma gaiola giratória por cinco dias consecutivos e em seguida, foram submetidos a ovariectomia, permanecendo em repouso por 24 horas. Cumprido o período de repouso os mesmos foram colocados para prática de atividade física em uma gaiola giratória por 9 semanas.

Procedimento cirúrgico

Realizou-se uma incisão reta transversal na fossa ilíaca de aproximadamente três centímetros na pele e tecido celular subcutâneo a cerca de um centímetro da linha mediana. Foi divulsionada a parede muscular até ter acesso à cavidade abdominal, localizando-se o ovário em meio a uma massa gordurosa. A retirada do ovário foi efetuada após ligadura da extremidade da tuba uterina, seccionando-se entre a ligadura e o ovário. A ferida foi fechada por planos. Todo o procedimento foi repetido do outro lado para a retirada do outro ovário.

Gaiola giratória padrão

Para execução da atividade física foi construída uma gaiola giratória em aço, fechada com tela de alumínio, com 0,96 m de perímetro e 0,12 m de largura. O modelo de gaiola é semelhante ao utilizado por Hoshi et al.⁽¹¹⁾ e Wu et al.⁽¹²⁾. Um motor de corrente contínua foi ligado a uma fonte possibilitando o controle da velocidade.

Os animais exercitados tiveram suas atividades físicas divididas em duas fases, a primeira considerada treinamento e a segunda tratamento. Na fase I os animais foram submetidos a 5 dias consecutivos de treinamento com aumento progressivo do tempo de atividade física realizando 5 minutos de atividade no primeiro dia, 10 minutos

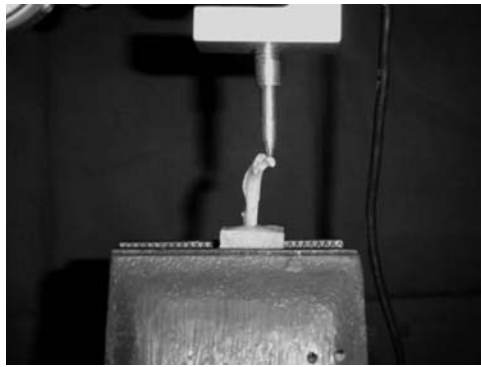


Figura 1 - Imagem de um fêmur como a base inclusa em resina acrílica sendo submetido ao ensaio mecânico de flexo-compressão na MUE.



Figura 2 - Imagem de uma tíbia sendo submetida ao ensaio mecânico de flexão em 3 pontos.

no segundo, 15 minutos no terceiro, 20 minutos no quarto e 25 minutos no quinto dia sempre com velocidade média de 0,31 m/s. O treinamento foi feito antes da execução da cirurgia. Na fase II foi realizada atividade física em uma gaiola giratória por 30 minutos, 5 dias por semana durante 9 semanas com velocidade de 0,31 m/s, iniciando 24 horas após a realização do procedimento cirúrgico.

Preparo dos espécimes

As ratas foram mortas através da administração excessiva do anestésico Tiopental® e dissecados os fêmures e tíbias, direitos e esquerdos. As tíbias foram embebidas em soro fisiológico até o momento do ensaio mecânico de flexão em três pontos. Os fêmures tiveram a porção distal incluída em uma base de resina acrílica auto-polimerizante, mantendo-os pulverizados por soro fisiológico durante o procedimento de inclusão e embebidos até a execução do ensaio mecânico.

Ensaio mecânico

Os ensaios mecânicos foram realizados na máquina universal de ensaios (MUE) desenvolvida no laboratório de Bioengenharia da FMRP-USP. A carga foi aplicada a uma velocidade de 0,1 mm/ minuto, com intervalos de medida da deformação de 0,02 mm, e registrada por uma célula de carga KRATOS®, modelo KM, de 50 Kgf, acoplada ao amplificador CAE 201 SODMEX®. As deformações foram registradas por um relógio comparador

MITUTOYO® com precisão de um centésimo de milímetro. Foi aplicada uma pré-carga de 2,94 N, com tempo de acomodação do sistema de 30 segundos.

Os fêmures direitos e esquerdos foram submetidos ao ensaio de flexo-compressão. Para o teste, a base de resina acrílica foi presa em uma morsa fixada na MUE. Para aplicação da carga foi utilizada uma haste com a extremidade inferior côncava sobre a cabeça do fêmur (Figura 1).

As tíbias direitos e esquerdas foram submetidas ao ensaio de flexão em três pontos. A carga foi aplicada transversalmente à tíbia em sua face posterior, através de um pino de aço de 4 cm de comprimento e 0,2 cm de diâmetro, sobre um acessório com espaçamento de 30 mm entre os apoios (Figura 2).

Os valores registrados e colhidos pela ponte de extensimetria foram transcritos para o programa *Microsoft Excel 2000*®, onde foi possível construir gráficos carga versus deformação, com os quais foram calculadas as propriedades mecânicas de carga no limite máximo, deformação no limite máximo e rigidez.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando comparados simultaneamente.

Na análise entre os grupos foi utilizado o teste *Student – Newman – Keuls* com significância de 5%. Toda análise estatística foi realizada pelo programa *Instat - Graph® Pad v. 3.0*.

RESULTADOS

Carga no limite máximo dos fêmures

Os valores médios da carga no limite máximo dos fêmures encontrados para os diferentes grupos são G1: (137,95±21,66) N, G2: (108,40 ± 20,56) N e G3: (119,21 ± 20,8) N.

Na análise simultânea dos grupos foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,0003$). A análise estatística para comparação entre os valores médios de carga no limite máximo

indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos G1 X G2 e G1 X G3. A comparação entre G2 X G3 não apresentou diferença estatística significativa.

Deformação no limite máximo dos fêmures

Os valores médios da deformação no limite máximo dos fêmures encontrados para os diferentes grupos foram G1: $(0,78 \pm 0,26)$ mm, G2: $(0,53 \pm 0,10)$ mm e G3: $(0,63 \pm 0,13)$ mm.

Na análise simultânea dos grupos foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,0005$). A análise estatística para comparação entre os valores médios da deformação no limite máximo indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos G1 X G2 e G1 X G3. A comparação entre G2 X G3 não apresentou diferença estatística significativa.

Rigidez dos fêmures

Os valores médios da rigidez dos fêmures encontrados para os diferentes grupos foram G1: $(213,19 \pm 51,90) \times 10^3$ N/m, G2: $(243,39 \pm 62,26) \times 10^3$ N/m e G3: $(216,11 \pm 55,45) \times 10^3$ N/m.

Na análise simultânea dos grupos não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,2229$).

Carga no limite máximo das tíbias

Os valores médios da carga no limite máximo das tíbias dos grupos foram G1: $(54,40 \pm 11,45)$ N, G2: $(60,87 \pm 6,02)$ N e G3: $(58,30 \pm 9,93)$ N.

Deformação no limite máximo das tíbias

Os valores médios da deformação no limite máximo das tíbias dos grupos foram G1: $(0,78 \pm 0,26)$ mm, G2: $(0,53 \pm 0,10)$ mm e G3: $(0,63 \pm 0,13)$ mm.

Rigidez das tíbias

Os valores médios da rigidez das tíbias dos grupos foram G1: $(75,40 \pm 20,91) \times 10^3$ N/m, G2: $(88,92 \pm 12,37) \times 10^3$ N/m e G3: $(80,25 \pm 19,73) \times 10^3$ N/m.

Não encontramos diferenças estatisticamente significativas nas propriedades mecânicas das tíbias dos três grupos experimentais.

DISCUSSÃO

Para estudar as causas, mecanismos de ação e terapêuticas aplicáveis no tratamento da osteoporose tem sido utilizado o modelo de rata castrada para indução de quadro osteopênico. A rata ovariectomizada mostra-se como um modelo de grande utilidade, principalmente por apresentar mecanismos biológicos semelhantes àqueles ocorridos em mulheres osteoporóticas⁽¹³⁾.

Para que os animais realizassem a atividade física foi confeccionada uma gaiola giratória de aço com velocidade controlada através de uma fonte. O modelo de gaiola foi semelhante ao utilizado por Hoshi et al.⁽¹¹⁾ e Wu et al.⁽¹²⁾ em seus experimentos.

Hoshi et al.⁽¹¹⁾ realizaram um experimento onde fêmures de ratas de diversas idades submetidas à atividade física apresentaram valores mais elevados de carga no limite máximo e de rigidez do que os fêmures dos grupos não exercitados, neste estudo utilizaram períodos de 10, 20 e 60 semanas de exercícios.

Wu et al.⁽¹²⁾ analisaram os efeitos da administração de hormônios e exercícios na massa óssea de ratas ovariectomizadas. Os fêmures das ratas submetidas a exercícios físicos apresentaram maior densidade óssea em comparação aos grupos não exercitados.

O tempo de prática da atividade física estabelecido encontra-se em conformidade com o estudo realizado por Wu et al.⁽¹²⁾. Entretanto, a velocidade com que giramos nossa esteira é 55% superior à empregada por Wu et al.⁽¹²⁾ exigindo maior esforço dos animais.

Kodama⁽¹⁴⁾ afirma que a resistência mecânica, avaliada pela carga no limite máximo, da extremidade proximal do fêmur de um grupo de ratas ovariectomizadas diminuiu após 9 semanas de cirurgia, comparando-se com o grupo de ratas não ovariectomizadas.

Carvalho⁽¹⁵⁾ afirma que a indução de osteopenia em ratas maduras pela ovariectomia necessita de um período mínimo de 30 dias.

Nossos animais foram exercitados desde o período inicial da falta da ação hormonal e os exercícios foram mantidos até a morte dos animais, de tal modo que considerávamos inicialmente que este tempo transcorrido seria suficiente para se expressar tanto a falta hormonal como o efeito do exercício físico.

Estudos mostram que diferentes regiões ósseas respondem a ovariectomia de formas distintas, sendo que regiões com predominância de osso cortical não sofrem alterações significativas por serem menos sensíveis à queda do hormônio ovariano⁽¹⁶⁾.

O ensaio de flexo-compressão do fêmur é eficiente para avaliar as propriedades mecânicas da extremidade proximal do fêmur, principalmente a região constituída por osso trabecular^(14, 17).

O ensaio de flexão em 3 pontos é preferível para ossos de constituição predominantemente cortical, como a tíbia, sendo a forma de teste adotada por Mosekilde et al.⁽¹⁶⁾ e por Hogan et al.⁽¹⁸⁾ para avaliar as propriedades mecânicas de tíbias.

Os valores médios que obtivemos das propriedades mecânicas das tíbias dos grupos controle, ovariectomizado e ovariectomizado submetido à atividade física não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados simultaneamente.

Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos realizados por Hogan et al.⁽¹⁸⁾, que submetem tíbias de ratas ovariectomizadas ao ensaio mecânico de 3 pontos não encontrando diferença estatisticamente significativa nas propriedades biomecânicas de rigidez e carga no limite máximo. A ovariectomia exerce influência sobre o tecido cortical, porém de forma menos expressiva especialmente em períodos curtos de tempo⁽¹⁵⁾.

Assim sendo, julgamos que os testes mecânicos nas tíbias dos diferentes grupos de animais forneceram resultados sem diferenças estatísticas devido ao curto espaço de tempo definido para ser percebido o efeito da ovariectomia sobre o osso cortical, ou porque a ovariectomia não provoca alterações nas propriedades mecânicas avaliadas nas tíbias, mas certamente não como resposta ao exercício físico, uma vez que o grupo ovariectomizado e não exercitado forneceu resultados similares ao controle.

Em relação aos ensaios realizados nos fêmures encontramos que o valor médio da carga no limite máximo dos fêmures do grupo ovariectomizado foi significativamente menor do que o valor médio do grupo controle, indicando que a ovariectomia provocou a redução deste parâmetro biomecânico.

Resultados similares foram encontrados nos estudos realizados por Peng et al.⁽¹⁹⁾, que avaliaram a extremidade proximal dos fêmures de ratas após 6 semanas de ovariectomia e encontraram redução significativa da carga no limite máximo do grupo ovariectomizado em relação ao não ovariectomizado. Kodama⁽¹⁴⁾ avaliou a carga no limite máximo da porção proximal do fêmur de ratas ovariectomizadas e encontrou diminuição significativa da carga no limite máximo em comparação ao controle.

O valor médio de carga no limite máximo dos fêmures do grupo ovariectomizado e submetido à atividade física foi superior ao valor médio apresentado pelo grupo ovariectomizado, embora não tenhamos encontrado diferenças estatisticamente significativas na comparação destes resultados, eles por si sugerem um efeito benéfico do exercício na preservação da perda da resistência óssea na extremidade proximal do fêmur das ratas ovariectomizadas. O grupo controle apresenta valores de carga no limite máximo estatisticamente superior ao valor encontrado para os grupos ovariectomizados e, assim sendo, embora exista uma indicação tendendo a mostrar melhora mecânica nos fêmures dos animais submetidos a exercícios nossos resultados tratados estatisticamente não permitem afirmar que a atividade física empregada neste experimento tenha sido suficiente para reduzir os efeitos deletérios da perda hormonal.

Resultados diferentes foram encontrados nos estudos de Hoshi et al.⁽¹¹⁾ e Chen et al.⁽²⁰⁾ que verificaram propriedades mecânicas melhores dos fêmures dos animais submetidos à atividade física. No entanto, os parâmetros utilizados para a prática da atividade física foram diferentes dos que nós aplicamos, Chen et al.⁽²⁰⁾ utilizaram uma velocidade inferior e um tempo de aplicação da atividade

superior (60 minutos), Hoshi et al.⁽¹¹⁾ avaliaram os animais de seu experimento por um período maior de tempo (10, 20 e 60 semanas) fornecendo indícios que os parâmetros adotados para a prática de atividade física ou o tempo de duração do experimento foram insuficientes para avaliar o comportamento mecânico do tecido osteopênico submetido à atividade física.

O valor médio da deformação no limite máximo dos fêmures do grupo controle foi maior do que o do grupo ovariectomizado e do que o do grupo ovariectomizado e submetido à atividade física. O grupo ovariectomizado submetido à atividade física possui valor médio superior ao não tratado, porém sem significância estatística.

O procedimento de ovariectomia e a prática de atividade física não foram capazes de exercer influência sobre a propriedade mecânica

de rigidez, sugerindo que a deficiência do estrógeno e a prática de atividade física não foram suficientes para alterar a proporcionalidade entre o suporte de carga e a deformação correspondente do material na fase elástica no período de tempo adotado.

CONCLUSÕES

A atividade física aplicada por 30 minutos, 5 dias por semana durante 9 semanas a 0,31 m/s não foi suficiente para corrigir as alterações biomecânicas do tecido ósseo provocadas pela ovariectomia na extremidade proximal do fêmur de ratas.

As tíbias dos animais somente ovariectomizados e os submetidos a ovariectomia com atividade física não apresentaram alterações significativas em nenhuma das propriedades mecânicas estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Consensus development conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: p.646-50.
2. Lindsay R. Estrogen deficiency. In: Riggs BL., Melton LJ. Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott- Raven 1995; Cap.6, p. 133-60.
3. Plapler PG. Osteoporose e exercícios. *Rev do Hospital das Clinicas da Faculdade de Med* 1997;52: p. 163-70.
4. Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev* 2001; 81: p.419-47.
5. Ishida Y., Tertinegg I, Heershe JNM. Progesterone and dexamethasone stimulate proliferation and differentiation of osteoprogenitors and progenitors for adipocytes and macrophages in cell populations derived from adult rat vertebrae. *J Bone Mineral Res* 1996; 13: p. 1243-50
6. Kannus P, Niemi S, Parkkari J, Palvanen M, Vuori I, Jarvinen M. Hip fracture in Finland between 1970 and 1997 predictions for the future. *Lancet* 1999; .6: p.353-78.
7. Rennó ACM, Driusso P, Ferreira V. Atividade física e osteoporose: uma revisão bibliográfica. *Fis mov* 2001; 13: p.49-54.
8. Layne JE, Nelson ME. The effects of progressive resistance training on bone density a review. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 30: p.21-37.
9. Canali ES, Krue LFM. Respostas hormonais ao exercício. *Rev Paulista de Ed Fis* 2001; 15: p. 141-53.
10. Karam FC. Esporte como prevenção de osteoporose: um estudo da massa óssea de mulheres pós- menopáusicas que foram atletas de voleibol. 102p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1997.
11. Hoshi A, Watanabe H, Inaba Y. Effects of exercise at different ages on bone density and mechanical properties of femoral bone of aged mice. *Tohoku J Exp Med* 1998; 5: p. 15-24.
12. Wu J, Wang XX, Thakasaki M, Otha A, Higuchi M, Ishimi Y. Cooperative effects of exercise training and genistein administration on bone mass in ovariectomized mice. *J Bone Mineral Res* 2001; 16: p.1829-36.
13. Frost HM, Jee WS. On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone Mineral* 1992; 18: p.227-36.
14. Kodama AC. Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade em um modelo ósseo de ratas ovariectomizadas analisadas por ensaios de flexo-compressão. Dissertação (Mestrado), Programa de pós-graduação em Bioengenharia Interunidades Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2003
15. Carvalho DCL. Ação do ultra-som de baixa intensidade em ossos de ratas osteopênicas. 82p. Dissertação (Mestrado), Programa de pós-graduação em Bioengenharia Interunidades Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2001.
16. Mosekilde L, Thomsen JS, Orhii PB, Kalu DN. Growth hormone increases vertebral and femoral bone strength in osteopenic, ovariectomized, aged rats in a dose – dependent and site – specific manner. *Bone* 1998; 23: p.343-52.
17. Stentron M, Olander B, Lehto-Axtelius D, Madsen JE, Nordsletten L, Carlsson GA. Bone mineral density and bone structure parameters as predictors of bone strength: an analysis using computerized microtomography and gastrectomy-induced osteopenia in the rat. *J Biomech* 2000; 33: p.289-97.
18. Hogan H A, Ruhmann S P, Sampson H. W. The mechanical properties of cancellous bone in the proximal tibia of ovariectomized rats. *J Bone Mineral Res* 2000; 15: p.284-92.
19. Peng ZQ, Tuukkanen J, Zhang H, Jamsa T, Vaananen HK. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. *Bone* 1994; 15: p.523-32.
20. Chen X, Aoki H, Fukui Y. Effect of exercise on the bone strength, bone mineral density, and metal content in rat femurs. *Biomed Mater Eng* 2004; 14: p.53-9.