



A Natação Minimiza o Retardo no Crescimento Somático e Ósseo de Ratos?

Does Swimming Minimize Somatic and Bone Growth Delay in Rats?

Ana Cristina Falcão Esteves¹

Fabiana Soares Bizarria²

Marcos Paulo Galdino Coutinho²

Tâmara Kelly Delgado Paes Barreto²

Maria do Socorro Brasileiro-Santos³

Silvia Regina Arruda de Moraes²

1. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco – Recife, PE.

2. Departamento de Anatomia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco – Recife, PE.

3. Departamento de Educação Física Centro de Ciência da Saúde Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB

Endereço para correspondência:

Rua Adolfo Ciriaco, 169, casa A11,

Prado – 50720-280, Recife-PE.

E-mail: sramoraes@gmail.com

RESUMO

A formação óssea é regulada por fatores hormonais e modificada por estímulos extrínsecos, como a prática de exercícios. Avaliou-se o efeito da natação sobre o crescimento somático e ósseo de ratas submetidas a dois modelos experimentais a fim de reproduzir déficit hormonal. Utilizou-se 28 ratas Wistar neonatas fêmeas separadas em: grupo Glutamato Monossódico (GluM, n = 14; solução de GM 4.0mg/g, dias alternados, primeiros 14 dias de vida) e grupo Salina (Sal, n = 14; solução salina). Peso corpóreo e mensurações murinométricas (eixos laterolateral, anteroposterior do crânio – LLC/APC – e comprimento da cauda – CC) foram avaliados do primeiro ao 30º dia de vida. Aos 60 dias, o Grupo GluM foi ovariectomizado (GluMO) e o sal apenas passou pelo estresse cirúrgico. Então, metade dos animais de cada grupo iniciou o programa de natação (12 semanas, cinco dias/semanas, 60 min/sessão) resultando nos seguintes grupos experimentais: Salina Sedentário (Salsed, n = 7), Salina Natação (Salnat, n = 7), Glutamato Ovariectomia Sedentário (GluMOsed, n = 7) e Glutamato Ovariectomia Natação (GluMONat, n = 7). Ao final do experimento o fêmur direito foi pesado e seu comprimento avaliado. Nos 30 dias iniciais, GluM reduziu o peso corpóreo e os eixos LLC, APC e CC comparado ao grupo SAL. Aos 60 dias, o peso corpóreo do GluM permaneceu menor comparado ao SAL e ao final foi similar entre os grupos SALSed e SALnat e, GluMOsed e GluMONat. Porém, houve redução no peso do GluMOsed comparado ao SALSed. A natação favoreceu o peso do fêmur no SAL e não o alterou entre os GluMOsed e GluMONat, entretanto, houve aumento no grupo SALSed comparado ao GluMOsed. No comprimento, o SALnat foi similar ao SALSed e o mesmo ocorreu entre GluMONat e GluMOsed. Porém, SALSed apresentou comprimento maior que GluMOsed. A natação não foi capaz de reverter, em animais adultos jovens, os efeitos provocados por situações de desequilíbrio corpóreo induzidas precocemente no tecido ósseo.

Palavras-chave: tecido ósseo, crescimento corpóreo, ovariectomia, natação.

ABSTRACT

The bone formation is regulated by hormonal factors and modified by extrinsic stimuli, such as practice of exercises. The effect of swimming on the somatic and bone growth of female rats subjected to two experimental models to reproduce hormone deficiency was assessed. Twenty-eight Wistar, neonate female rats separated in two groups: Monosodium glutamate (MGlu, n = 14; solution of monosodium glutamate 4.0mg/g, alternate days, first 14 days of life) and Saline Group (SAL, n = 14; saline solution. Body weight and measurements of somatic development (latero-lateral axis of the skull, anterior-posterior axis of the skull - LLS / APS - and length of the tail - LT) were evaluated from the 1st to the 30th day of life. At 60 days of life, the MGlu group was ovariectomized and SAL just went through surgical stress. Subsequently, half of the animals in each group started the swimming training (12 weeks, 5 days/week, 60 min/session), resulting in the following experimental groups: Sedentary saline (Sedsal, n = 7), Swimming saline (Swisal, n = 7), Sedentary glutamate ovariectomy (SedMGluO, n = 7) and Swimming glutamate ovariectomy (SwiMGluO, n = 7). At the end of the experiment, the right femur was weighed and its length assessed. At the 30 initial days, the MGlu group reduced its body weight and the LLS, APC and LT compared to SAL. At day 60, body weight of MGlu group remained lower and at the end of the experiment it was similar between Swisal and Sedsal groups; SedMGluO and SwiMGluO groups. However, weight reduction was observed in SedMGluO compared to SedSAL. Swimming helped the weight of the femur in the SAL and did not alter it between SedMGluO and SwiMGluO, but it increased in Sedsal compared to SedMGluO group. In length, the SwiSal was similar to Sedsal and the same situation occurred between SwiMGluO and SedMGluO. However, Sedsal group presented greater length than SedMGluO. Swimming was not able to reverse the effects caused by situations of body imbalance early induced in the bone tissue in young adult animals.

Keywords: tissue, body growth, ovariectomy, swimming.

INTRODUÇÃO

Durante a vida, o osso está em contínuo processo de formação e reabsorção, em que, o aumento ou a perda da massa óssea depende do balanço entre esses processos⁽¹⁾ que são regulados sistematicamente por hormônios, dentre eles, os ovarianos e os da hipófise⁽²⁾.

Além dos fatores hormonais, a massa óssea também pode ser modificada por estímulos extrínsecos, tais como a prática regular de exercícios físicos⁽³⁾, os quais geram forças mecânicas que aplicadas aos ossos podem modificar sua estrutura e morfologia⁽⁴⁾. Portanto, estudar a influência da atividade física na dinâmica do esqueleto tem provocado grande interesse por sua importância na arquitetura óssea.

Os estímulos mecânicos originados por estas atividades culminam em forças reativas que, juntamente com as contrações musculares, estimulam o tecido ósseo promovendo osteogênese⁽⁵⁾. Existem diferentes tipos de exercícios, quanto ao modo e a intensidade, que podem prevenir as perdas ósseas⁽⁶⁾. Exercícios aeróbicos que incidem carga de peso, como a corrida em esteira, têm mostrado vantagens para a densidade mineral óssea⁽⁷⁾. Por outro lado, exercícios aeróbicos que são realizados sem carga de peso, como a natação, ainda são pouco esclarecidos e controversos⁽⁸⁾.

A administração de glutamato monossódico (GluM) em ratos, no período neonatal, causa destruição na maior parte dos neurônios produtores do hormônio liberador do hormônio de crescimento (GHRH) e tem sido um modelo bastante utilizado para estudos sobre a deficiência do hormônio de crescimento (GH)⁽⁹⁻¹³⁾. Por outro lado, a ovariectomia é considerada um modelo apropriado para a investigação dos efeitos da deficiência do estrógeno⁽¹⁴⁾, o qual é de grande importância para a manutenção da remodelação óssea normal⁽¹⁵⁾. Desta forma, este estudo utilizou dois modelos associados para reproduzir o déficit hormonal com suas repercussões no tecido ósseo e avaliar o efeito do exercício de natação sobre esse tecido em ratas na idade adulta.

MÉTODOS

Foram utilizadas 28 ratas neonatas da linhagem Wistar, fêmeas (colônia de criação do Departamento de Nutrição da UFPE), foram mantidas em gaiolas coletivas em condições controladas de temperatura (22 ± 1 °C), ciclo claro/escuro de 12/12 horas e com livre acesso à dieta padrão e água filtrada. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE), ofício nº 23076.018024/2007-11, e seguiu as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A partir do primeiro dia de vida os animais foram separados aleatoriamente, inicialmente em dois grupos: Glutamato Monossódico (GluM, n = 14) e Salina (SAL, n = 14). Os animais do grupo GluM receberam uma solução de glutamato monossódico via subcutânea na dose de 4mg/g de peso em dias alternados nos primeiros 14 dias de vida⁽¹⁶⁾, enquanto que os animais do grupo SAL receberam solução salina na mesma dose e frequência. Todos os animais foram pesados diariamente do primeiro ao 30º dia após o nascimento (Balança Digital Smart), no 60º dia de vida e ao final do experimento (Balança Filizola). Foi avaliado o desenvolvimento somático dos animais através de mensurações diárias nos primeiros 30 dias de vida, considerando os eixos laterolateral e anteroposterior do crânio (LLC e APC) e o comprimento da cauda (CC)⁽¹⁷⁾.

Ao completarem a idade de 60 dias, os animais do grupo GluM foram submetidos a um procedimento cirúrgico para a retirada dos ovários bilateralmente, enquanto os animais do grupo SAL foram submetidos ao estresse cirúrgico sem retirada dos ovários.

Uma semana antes do procedimento cirúrgico, metade dos animais de cada grupo iniciou a fase de adaptação do programa de exercício

de nado livre⁽¹⁸⁾. A atividade ocorreu em um tanque de amianto com capacidade de 500L e área superficial para nado de 0,90m² possuindo em sua base uma resistência acoplada a um termostato que permite o controle da temperatura da água em torno de 32-36°C, trocada diariamente. Durante a sessão de exercício os ratos eram monitorados para evitar que tocassem nas laterais do recipiente. Os animais que não realizaram o exercício de natação foram mantidos separados em gaiolas com aproximadamente 2cm 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 em toalhas e em seguida acondicionados a uma câmara de aquecimento (área superficial de 0,25m²).

Após o procedimento cirúrgico os animais permaneceram durante uma semana em repouso e em seguida metade dos animais do GluMO (Glutamato Monossódio Ovariectomizado) e do SAL reiniciaram o protocolo de exercício de natação durante dez semanas (tabela 1). Ao final do experimento, todos os animais tiveram o fêmur direito coletado, pesado e mensurado o comprimento com auxílio de um paquímetro (Western, 0,02mm).

Tabela 1. Protocolo de exercício de natação.

Semanas	Duração
1º	1º dia: 5 minutos
	2º dia: 10 minutos
	3º dia: 10 minutos
	4º dia: 15 minutos
	5º dia: 15 minutos
Final de Semana	Cirurgia
2º	Recuperação Cirúrgica
3º	1º dia: 15 minutos
	2º dia: 20 minutos
	3º dia: 25 minutos
	4º dia: 30 minutos
	5º dia: 40 minutos
4º	1º dia: 45 minutos
	2º dia: 50 minutos
	3º dia: 55 minutos
	4º dia: 60 minutos
	5º dia: 60 minutos
5º - 12º	60 minutos

A análise estatística foi realizada com o teste "t" de Student seguido ou não pelo teste de Mann-Whitney para a comparação entre os dois grupos.

RESULTADOS

Os animais tratados com glutamato monossódico (GluM) apresentaram diminuição do peso corpóreo do quinto ao 30º dia (figura 1), da dimensão do eixo laterolateral (LLC) e do eixo anteroposterior do crânio (APC) a partir do oitavo ao 30º dia (figura 2 e figura 3) e do comprimento de cauda (CC) a partir do segundo até o 25º dia (figura 4).

Ao 60º dia de vida, o peso corpóreo do grupo GluM permaneceu menor em relação ao grupo SAL. Entretanto, aos 120º dias não houve

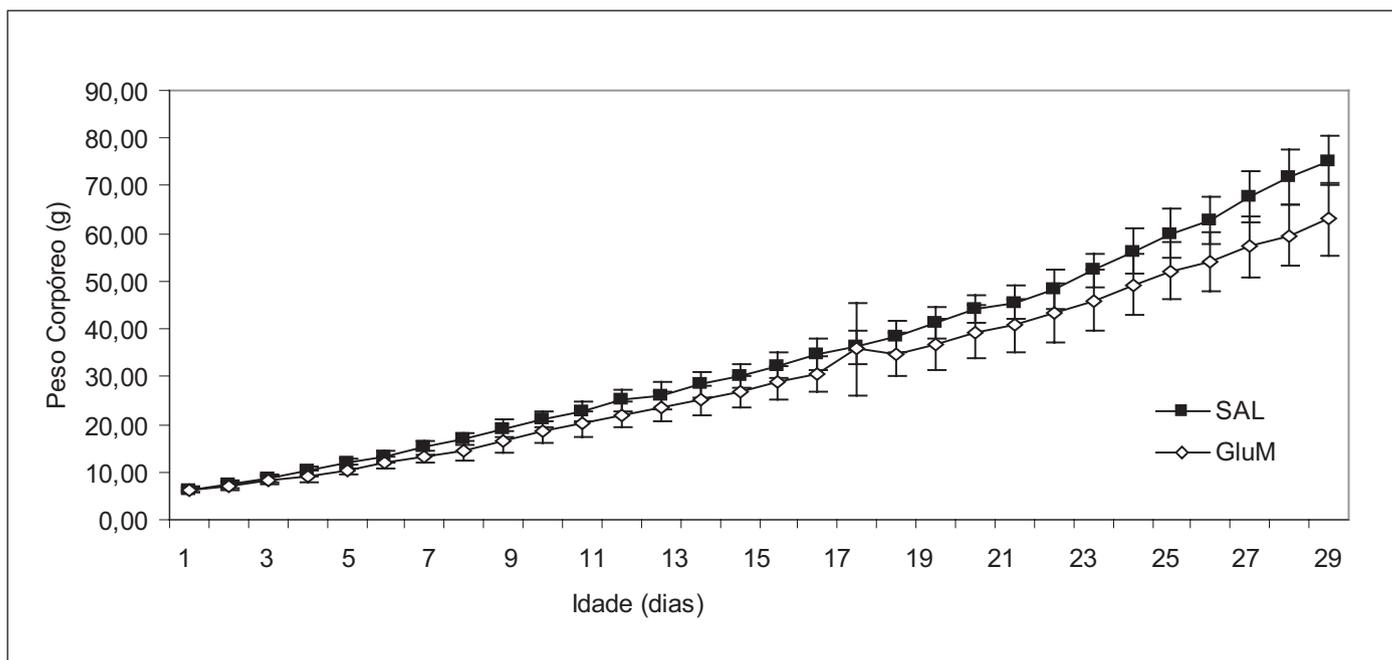


Figura 1. Efeito da administração neonatal de glutamato monossódico sobre a evolução ponderal de ratas fêmeas Wistar. Dados apresentados em média \pm DP (n = 14 no SAL e n = 14 no GluM). Testes estatísticos: teste t de Student e Mann Whitney, p < 0,05.

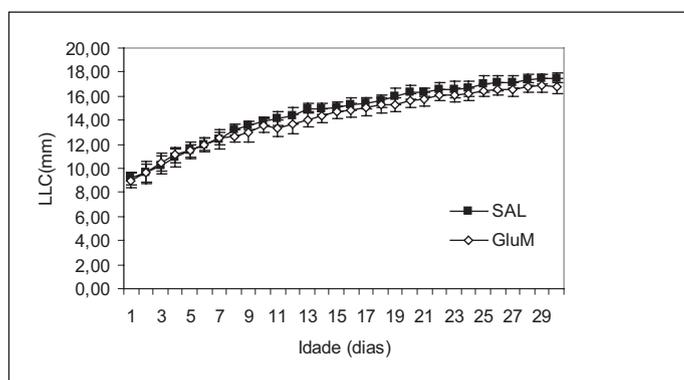


Figura 2. Efeito da administração neonatal de glutamato monossódico sobre o desenvolvimento do eixo laterolateral do crânio de ratas fêmeas Wistar. Dados apresentados em média \pm DP (n = 14 no SAL e n = 14 no GluM). Testes estatísticos: teste t de Student e Mann Whitney, p < 0,05.

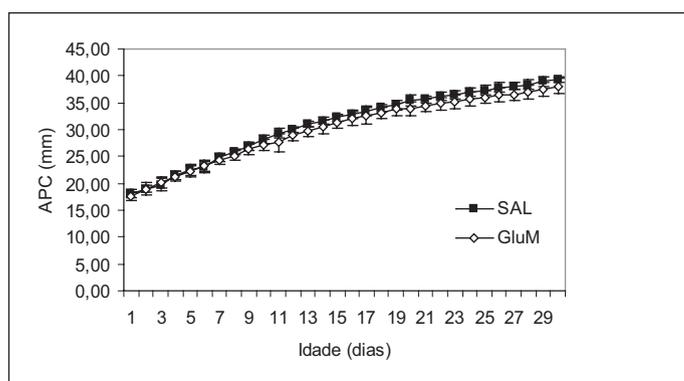


Figura 3. Efeito da administração neonatal de glutamato monossódico sobre o desenvolvimento do eixo anteroposterior do crânio de ratas fêmeas Wistar. Dados apresentados em média \pm DP (n = 14 no SAL e n = 14 no GluM). Testes estatísticos: teste t de Student e Mann Whitney, p < 0,05.

diferença no peso corpóreo entre os grupos SALsed (Salina Sedentária) e SALnat (Salina Natação) e entre os grupos GLuMOsed (Glutamato Monossódico Ovariectomizado Sedentário) e GLuMONat (Glutamato Monossódico Ovariectomizado Natação). O grupo GLuMOsed demonstrou redução do peso corpóreo quando comparado ao grupo SALsed (tabela 2).

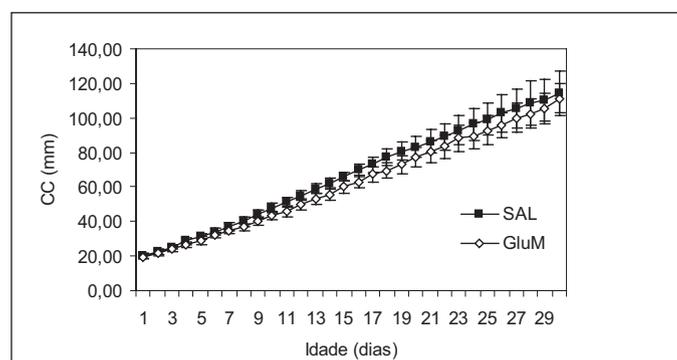


Figura 4. Efeito da administração neonatal de glutamato monossódico sobre o desenvolvimento da cauda de ratas fêmeas Wistar. Dados apresentados em média \pm DP (n = 14 no SAL e n = 14 no GluM). Testes estatísticos: teste t de Student e Mann Whitney, p < 0,05.

O exercício de natação promoveu um aumento no peso do fêmur no grupo SAL, porém, o mesmo exercício não foi eficiente para promover diferença do peso do fêmur entre os animais tratados com glutamato monossódico e ovariectomizados. O peso do fêmur também se apresentou maior nos animais do grupo SALsed quando comparados ao GLuMOsed. O grupo SALnat não mostrou diferença no comprimento do fêmur em relação ao grupo SALsed e esse resultado foi similar na comparação entre os grupos GLuMONat e GLuMOsed. Enquanto que na comparação entre os grupos SALsed e GLuMOsed observou-se um comprimento maior dos fêmures do primeiro grupo (tabela 2).

Tabela 2. Valores médios do peso corpóreo, do peso e do comprimento do fêmur nos grupos experimentais ao final do experimento.

Grupos	Peso corpóreo (g)	Peso fêmur (mm)	Comprimento fêmur (mm)
SALsed	241,7 \pm 12,1	0,608 \pm 0,01	33,51 \pm 0,52
SALnat	237,7 \pm 13,2	0,656 \pm 0,03b	33,12 \pm 0,60
GLuMOsed	204,8 \pm 18,7a	0,399 \pm 0,02c	28,60 \pm 0,52 d
GLuMONat	190,3 \pm 18,9	0,385 \pm 0,009	28,27 \pm 0,56

Valores expressos em média \pm DP de sete animais por grupo. Teste t de Student (a SALsed vs. GLuMOsed, bSALsed vs. SALnat, c SALsed vs. GLuMOsed, d SALsed vs. GLuMOsed, p \leq 0,001).

DISCUSSÃO

O ineditismo deste estudo foi avaliar o efeito de um programa de treinamento aeróbico numa situação em que foram associadas duas intervenções prejudiciais ao desenvolvimento corpóreo e ósseo de animais. A primeira intervenção foi a administração do glutamato monossódico (GluM) em ratas no período neonatal, que segundo a literatura, provoca lesões agudas e irreversíveis. Essas lesões afetam principalmente a região do núcleo arqueado e dependendo da dose pode produzir a perda de até 80-90% dos neurônios desta região, os quais secretam o GHRH⁽¹⁹⁾, hormônio responsável pelo estímulo da secreção do GH pela adeno-hipófise⁽²⁰⁾. Nesta condição, a atuação do GH no organismo é intensamente afetada⁽⁹⁾.

Estudos mostraram que a administração do GluM promove redução no peso corpóreo de ratas^(9,11-13) corroborando com os dados desta pesquisa, embora neste caso a redução foi observada a partir do quinto dia de vida. Entretanto, outros não evidenciaram alteração no peso destes animais⁽¹⁰⁾ o que sugere que a discordância dos resultados possa estar relacionada às diferentes doses e frequências na administração do glutamato monossódico adotadas nesses estudos. Enquanto que a diminuição do peso corpóreo foi visto com a administração de GM numa dose de 4mg/g de peso corpóreo num total de cinco a seis injeções subcutâneas, em outros estudos, que obtiveram resultados opostos, ou a dose fornecida era menor ou a frequência de administração era inferior às utilizadas nesse estudo. Na idade de 60 dias o peso corpóreo continuou menor no grupo GluM quando comparado com o grupo Sal, indicando uma persistência no efeito do GluM sobre o peso corpóreo. Resultado semelhante foi também observado por Thompson *et al.* (1996).

O desenvolvimento somático, também se mostrou prejudicado nos animais que foram tratados com GluM. Os estudos que avaliam indicadores de crescimento como, o comprimento de cauda⁽¹⁰⁾ e o comprimento naso-anal de ratos⁽¹²⁾, demonstraram valores menores nos grupos tratados em relação ao controle, embora esses resultados tenham sido obtidos em animais na idade adulta. No presente estudo foram analisados, durante os primeiros 30 dias de vida, alguns parâmetros que também caracterizam o desenvolvimento somático de animais: além do comprimento de cauda, o eixo laterolateral (LLC) e o eixo anteroposterior do crânio (APC). E constatou-se que eles também foram afetados negativamente pela administração do GluM no período avaliado. Contudo, não foi possível comparar esses achados em virtude da ausência de dados na literatura sobre esses parâmetros na idade avaliada. Supõe-se que este aparecimento precoce das consequências do GluM no crescimento corpóreo se deva ao fato de que as lesões hipotalâmicas ocasionadas por ele possam iniciar até 15 minutos depois de sua administração⁽²¹⁾.

A segunda intervenção foi a ovariectomia, que é utilizada como modelo animal para estudos de deficiência do estrógeno, simulando o período pós-menopausa em humanos⁽¹⁴⁾. Este procedimento foi realizado quando o animal atingiu 60 dias de vida, idade em que a maturidade sexual do animal é alcançada e logo em seguida foi iniciada a fase de exercício físico. A prática regular de exercício é considerada uma influência positiva para o esqueleto e tem sido indicada na prevenção e no tratamento de doenças⁽²²⁾. No presente estudo, a associação de um protocolo de exercício físico de intensidade considerada não exaustiva⁽²³⁾ logo após a ovariectomia objetivou avaliar se a prática da natação poderia contribuir para atenuar os danos causados no tecido ósseo em virtude das intervenções promovidas no seu metabolismo.

Ao final do experimento houve redução do peso corpóreo nos animais que receberam glutamato monossódico e foram ovariectomizadas.

A ovariectomia é também referida na literatura como um modelo experimental para a indução de obesidade⁽²⁴⁾, porém não há relatos sobre valores do peso corpóreo em animais que retiraram os ovários e receberam o GluM no período neonatal. Entretanto, no estudo de Yeh *et al.* (1997)⁽²⁵⁾ onde foi associado hipofisectomia, outro modelo usado para fins de déficit hormonal, à ovariectomia, o peso corpóreo destes animais foi menor quando comparado com o grupo controle. O peso corpóreo final dos animais do grupo Glutamato Monossódico Ovariectomizadas, após o período da atividade de natação, não foi alterado. Da mesma forma, não foi observada interferência do exercício físico sobre o peso corpóreo dos animais dos grupos Salina. O mesmo resultado foi descrito em outros estudos com protocolos de natação semelhantes ao aplicado^(26,23). Quando o exercício de natação foi realizado em períodos de vida diferentes, observou-se que o peso corpóreo só foi influenciado nos grupos que começaram o exercício logo após o desmame, não havendo alterações quando o início foi na idade adulta⁽²⁷⁾.

Ao analisarmos o peso do fêmur foi observada uma redução desse parâmetro nos animais tratados precocemente com GluM e submetidos à ovariectomia. Do mesmo modo, no estudo de Yeh *et al.* (1997)⁽²⁵⁾, foi verificado que o peso da vértebra L₄ de ratas submetidas à ovariectomia e à hipofisectomia foi menor comparado com o grupo controle. A ovariectomia isoladamente induz a perda óssea pela maior taxa de reabsorção comparada com a de formação⁽²⁸⁾ e, a partir dos resultados apresentados nesse estudo, demonstrou que, ao ser associada à administração do GluM a taxa de formação e aumento da reabsorção óssea foi afetada numa dimensão maior.

Os ossos reagem aos estresses físicos que lhes são impostos através das alterações em sua estrutura e no aumento de sua massa, e estas alterações ocorrem se o estresse atingir uma força efetiva mínima, acima da qual os ossos irão se adaptar⁽⁴⁾. O exercício de natação promoveu um aumento no peso do fêmur no grupo Salina, porém o mesmo exercício não foi eficiente para promover diferença do peso do fêmur entre os animais tratados com GluM e ovariectomizadas, demonstrando que o estresse ocasionado pelo modelo de atividade física adotado nesse estudo não foi capaz de promover recuperação ou minimizar os efeitos das duas intervenções associadas. Na natação, diferente do que ocorre na corrida, o ambiente aquático anula a interação membro-solo, a ação do peso corpóreo sobre o osso e, também, a ação da força da gravidade⁽⁶⁾. Desta forma, acredita-se que o tipo de modalidade não tenha sido capaz de atingir a força efetiva mínima necessária para o osso se adaptar.

Estudos que utilizaram a natação em animais sadios observaram aumento no peso do úmero e da tíbia de animais adultos jovens^(8,26). Quando associado à ovariectomia, o exercício também promoveu melhorias estruturais como formação de osso cortical, aumento da densidade e melhor suporte em testes mecânicos no fêmur⁽¹⁸⁾. Contudo, para a elucidação dos possíveis mecanismos que estejam contribuindo para o remodelamento ósseo, neste caso onde associamos duas intervenções que impõem ajustes no metabolismo do osso, não foi encontrado informações na literatura.

Semelhante ao peso do fêmur, o comprimento final deste osso também foi afetado negativamente nos animais que receberam o glutamato monossódico e foram ovariectomizadas. Ou seja, houve uma redução na taxa de crescimento longitudinal óssea nestes animais. Outras investigações deste parâmetro mostraram sua redução em animais tratados com glutamato monossódico^(10,12,13). Uma possível explicação seria que a deficiência crônica de GHRH, ocasionada por este modelo, resultou numa inibição da secreção de GH⁽¹⁰⁾. A ausência de diferença do comprimento ósseo entre os grupos SAL exercitado

com o não exercitado e GluMONat com GluMOsed demonstra que mesmo, sob efeito de uma atividade estimulante como exercício regular e apesar da placa de crescimento epifisária, em ratos, permanece presente durante toda a vida⁽²⁹⁾, a capacidade de crescimento está limitada por já ter atingido a maturidade óssea⁽³⁰⁾ podendo ser comprovado pelo aumento do comprimento do fêmur em animais mais jovens submetidos a exercício de natação⁽⁸⁾.

Os resultados apresentados nesse estudo demonstraram que o protocolo de treinamento aeróbico não foi capaz de reverter, em animais adultos jovens, os efeitos provocados por situações de desequilíbrio corpóreo induzidas precocemente no tecido ósseo.

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

REFERÊNCIAS

1. Mosley JR. Osteoporosis and bone functional adaptation: Mechanobiological regulation of bone architecture in growing and adult bone, a review. *J Rehabil Res Dev* 2000;37:189-99.
2. Yeh JK, Chen MM, Aloia JF. Effects of estrogen and growth hormone on skeleton in the ovariectomized rat with hypophysectomy. *Am J Physiol* 1997;273:E734-42.
3. Kim CS, Fukuoka H, Obata F. Review of bone metabolic turnover under microgravity environment. *Ann Rep Phys Edu* 2002;34:65-73.
4. Frost HM. Bone mass and the mechanostat: a proposal. *Anat Rec* 1987;219:1-9.
5. Mullender MG, Huikes R. Proposal for the regulatory mechanism of Wolff's law. *J Orthop Res* 1995;13:503-12.
6. Forwood MR. Mechanical Effects on the Skeleton: Are There Clinical Implications? *Osteoporos Int* 2001;12:77-83.
7. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Exp Anim* 2005;54:1-6.
8. Swissa-Sivan A, Simkin A, Leichter I, Nyska A, Nyska M, Statter M, et al. Effects of swimming on bone growth and development in young rats. *Bone Miner* 1989;7:91-105.
9. Millard WJ, Martin Jr. JB, Audet J, Sagar SM, Martin JB. Evidence that reduced growth hormone secretion observed in monosodium glutamate-related rats is the result of deficiency in growth hormone-releasing factor. *Endocrinology* 1982;110:540-50.
10. Maiter D, Underwood LE, Martin JB, Koenig JI. Neonatal Treatment with Monosodium Glutamate: Effects of Prolonged Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone Deficiency on Pulsatile GH Secretion and Growth in Female Rats. *Endocrinology* 1991;128:1100-6.
11. Thompson MC, Norton NS, Rodriguez-Sierra JF, Lippielo L. Is glutamate-induced reduction in growth hormone-releasing hormone a neuroendocrine model of aging in the rat? *Proc. Soc. Exp Biol Med* 1994;206:69-75.
12. Thompson MC, Norton NS, Rodriguez-Sierra JF, Lippielo L. Growth Hormone-Releasing Hormone Depletion in the Female Rat: Similarities to Aging. *J Gerontol* 1996;51A:B83-90.
13. Rol De Lama MA, Perez-Romero A, Ariznavarreta MC, Hermanussen M, Tresguerres JAF. Periodic Growth in rats. *Ann Hum Biol* 1998;25:441-51.
14. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 1991;15:175-91.
15. Pacifi R. Cytokines, estrogen and postmenopausal osteoporosis-the second decade. *Endocrinology* 1998;139:2659-61.
16. Braga RL, Mello MAR, Gobatto CA. Continuous and intermittent exercise: effects of training and detraining on body fat in obese rats. *Arch Latino Am Nutr* 2004;54:58-65.
17. Silva HJ, Marinho SMOC, Silva AETM, Albuquerque CG, Moraes SRA, Castro RM. Protocol of Mensuration to Evaluation in Indicators of Somatic Development of Wistar Rats. *Int J Morphol* 2005;23:227-30.
18. 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;91:1663-8.
19. Olney JW. Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. *J Neuropathol Exp Neurol* 1971;30:75-90.
20. Sassolas G. Growth Hormone-Releasing Hormone: Past and present. *Horm Res* 2000;53:88-92.
21. Lemkey-Johnston N, Butler V, Reynolds WA. Glial changes in the progress of a chemical lesion. An electron microscopic study. *J Comp Neurol* 1976;167:481-502.
22. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Exp Anim* 2005;54:1-6.
23. Warner SE, Shea JE, Miller SC, Shaw JM. Adaptations in cortical and trabecular bone in response to mechanical loading with and without weight bearing. *Calcif Tissue Int* 2006;79:395-403.
24. Diemen VV, Trindade NE, Trinidade MRM. Experimental model to induced obesity in rats. *Acta Cirur Bras* 2006;21:425-9.
25. Yeh JK, Chen MM, Aloia JF. Effects of estrogen and growth hormone on skeleton in the ovariectomized rat with hypophysectomy. *Am J Physiol* 1997;273:E734-42.
26. Swissa-Sivan A, Azoury R, Statter M, Leichter I, Nyska A, Nyska M et al. The effects of swimming on bone modeling and composition in young adult rats. *Calcif Tissue Int* 1990;47:173-7.
27. Scomparin DX, Grassioli S, Margal AC, Gravina C, Andreazzi AE, Mathias PCF. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium L-glutamate-obesity onset in mice. *Life Sciences* 2006;79:2151-6.
28. Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, Citron M. Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. *Calcif Tissue Int* 1989;45:360-6.
29. Roach HI, Mehta G, Oreffo ROC, Clarke NMP, Cooper C. Temporal analysis of rat growth plates: cessation of growth with age despite presence of a physis. *J Histochem Cytochem* 2003;51:373-83.
30. 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;95:300-7.