

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

“Estudo densitométrico em tíbias de ratas: avaliação da atividade física aeróbica e suplementação vitamínica na obtenção do pico de massa óssea”

Clarissa Augusta de Melo Ribeiro

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

São José dos Campos, SP

2004

**Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento**

**“Estudo densitométrico em tíbias de ratas: avaliação da eficácia da
atividade física e dieta controlada como forma de prevenção primária
no combate à osteoporose”**

Clarissa Augusta de Melo Ribeiro

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológica, como complementação dos
créditos necessários para obtenção do
título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dra. Emilia Angela
Loschiavo Arisawa

São José dos Campos, SP

2004

R368e

Ribeiro, Clarissa Augusta de Melo

Estudo densitométrico em tíbias de ratas: avaliação da eficácia da atividade física e dieta controlada como forma de prevenção primária no combate à osteoporose /Clarissa Augusta de Melo Ribeiro. São José dos Campos: UniVap, 2004.
81p.: il.; 31cm.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraiba, 2004.

1. Osteoporose 2. Atividade Física 3. Densitometria 4. Dieta I. Arisawa, Emilia Angela loschiavo, Orient. II. Título

CDU:616.71-007.234

Autorizo exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiador ou transmissão eletrônica.

Aluna:

Data:

“Estudo densitométrico em tíbias de ratas: avaliação da atividade física e dieta controlada como forma de prevenção primária no combate à osteoporose.”

Clarissa Augusta de Melo Ribeiro

Banca Examinadora

Prof. Dr. Wellington Ribeiro (Univap) _____

Prof. Dra. Emilia A. Loschiavo Arisawa (Univap) _____

Prof. Dra. Valéria Abrantes P. Carvalho (Unesp) _____

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor do IP&D

São José dos Campos, 23 de abril de 2004.

Dedicatória

A Deus que, estando presente em todos os momentos, tornou possível a realização de mais este sonho.

Dedicatória

**À minha família pela dedicação e
presença constante em minha vida.**

Dedicatória

À orientadora Emilia pelo apoio e estímulo durante todo este trabalho.

Agradecimentos

A Deus, que, indiscutivelmente, colocou seres iluminados em meu caminho e tornou tudo isso possível.

À Professora Dra. Emilia Angela Loschisawa, pela oportunidade em tê-la como orientadora. Por todo estímulo durante os ensinamentos, zelo e dedicação para a realização desta dissertação.

Ao Professor Dr. Baptista Gargione, Magnífico Reitor da Universidade do Vale do Paraíba – Univap, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

Ao Professor Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco, Diretor do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D, a Universidade do Vale do Paraíba, pela oportunidade de participar do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Univap.

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Prof. Dr. José Carlos Cogo, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

À Professora Dra. Ana Cristina Pacheco Soares, responsável pelo Biotério do IP&D, pela disponibilidade e colaboração para realização do experimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Wellington Ribeiro, responsável pelo Laboratório de Esforço Físico do IP&D, pela disponibilidade para realização deste trabalho.

À Mestre Caterina Muramoto, pelos ensinamentos, que foram imprescindíveis para a realização da análise utilizada nesta pesquisa.

Ao Professor Roberto Antonio Nicodemo e sua equipe, pelo carinho e disponibilidade com que auxiliou e colaborou para realização da análise radiográfica desta pesquisa.

Ao Professor Roberto Fagundes Carvalho pela contribuição para a conclusão desta pesquisa.

Ao Professor Dr. Franklin de Almeida Sterman, Coordenador do Centro de Radiologia do Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo, onde foi realizada a densitometria óptica.

Às Professoras Simone Bustamante Nascimento e Tatiana Pinto Ribeiro pelo auxílio prestado durante este trabalho.

Aos mestrados Ricardo Pombo Sales, Carlos Eduardo César Miné e Rafaela F. França, pelo auxílio prestado durante esta pesquisa.

À minha família e a Leandro D. de Vasconcelos pelo apoio e estímulo para a realização de todos os meus objetivos.

Aos animais utilizados nesta pesquisa, por terem sido sacrificados em benefício do desenvolvimento científico.

**“ Sabedoria é saber qual a próxima coisa a fazer,
capacidade é saber como fazê-la
e virtude é fazê-la”
*David Starr Jordan***

Resumo

Considerando a curva ascendente de crescimento da população idosa em nosso país, vemos a importância de observar com especial atenção a osteoporose, distúrbio silencioso, caracterizado por grandes perdas ósseas. Ao longo dos anos, têm sido estudadas diversas maneiras de prevenção e tratamento deste distúrbio. Estudos recentes ressaltaram o efeito do exercício físico no conteúdo mineral ósseo, bem como a importância de uma dieta efetiva. Porém, o papel do exercício físico e de uma suplementação para a prevenção da osteoporose é ainda controverso, principalmente, em relação à prevenção primária deste distúrbio. O objetivo deste trabalho foi avaliar, através de análise densitométrica de tíbias de ratas, a eficácia da suplementação de cálcio associada ou não ao exercício físico quando realizados durante a faixa etária crítica para o alcance do pico de massa óssea. Foram utilizados 40 animais recém-desmamados divididos em 4 grupos: GC – controle, GE – exercício, GS – suplementado e GES – exercício associado à suplementação de cálcio. Os animais dos grupos GE e GES foram submetidos a um protocolo de exercício físico com duração de 12 semanas. Por outro lado, os grupos suplementados, escolhidos aleatoriamente, receberam dieta controlada de cálcio. Após o período experimental, os animais foram sacrificados para a retirada da tibia e realização do estudo densitométrico. A análise estatística dos valores densitométricos obtidos demonstraram que os animais dos grupos GE e GES apresentaram maior densidade mineral óssea em relação aos demais grupos. Esses resultados comprovaram que a prática de atividade física durante a infância e adolescência ou a atividade física associada com a administração de cálcio permitiram um ganho de densidade mineral óssea significativa, podendo esses procedimentos serem indicados como formas de prevenir a osteoporose em idade avançada.

Palavras-chaves – Cálcio; pico de massa óssea; atividade física; prevenção; densitometria óssea.

Abstract

Considering the rising growth curve of the elderly population in our country, we realize the importance of paying special attention to osteoporosis, silent disturbance, which is characterized by great bone loss. Throughout the years, several studies have been done to prevent this disturbance. Recent studies have pointed out the effect that physical exercises produce on the mineral bone contents, as well as, an effective diet. However, the function of the physical exercises and a supplement of calcium to prevent osteoporosis is still controversial, mainly when it concerns primary prevention of this disturbance. In this work we evaluated the efficacy of the supplement of calcium associated or not with physical exercises, through the densitometric analysis utilizing the tibias of a female rats, when it has been accomplished during the critical age range to get the maximum of the bone mass. Forty recently weaned female rats were divided into four groups: GS – control; GE – exercise; GS – supplemented; GES – exercise associated with calcium supplement. The GE and GES rats groups were submitted to a physical-activity protocol during twelve weeks. In the same way, the randomly supplemented groups chosen, got a controlled calcium diet. After the experimental period of twelve weeks, the rats were sacrificed, and the tibias were removed, so that a densitometry study of these tibias could be done. The statistical analysis of the densitometric values obtained allowed us to demonstrate that the rats of the groups GE e GES presented bigger mineral bone density compared to the other groups. These results proved that physical activities during childhood and adolescence associated or not with the administration of calcium allowed significant mineral bone density gain, thus indicating it to be a viable way to prevent osteoporosis in the elderly population.

Key words – calcium; physical-activities; prevent; bone densitometric.

Sumário

1. Introdução	15
2. Revisão da literatura	17
2.1 Princípios anátomos – fisiológicos	17
2.2 Fatores que influenciam no metabolismo ósseo	19
2.3 Pico de massa óssea	23
2.4 Cálcio e pico de massa óssea	25
2.5 Atividade física e o pico de massa óssea	27
2.6 Fatores ligados à prevenção	31
2.7 Densitometria óptica radiográfica	32
3. Proposição	36
4. Material e métodos	37
4.1 Animais	37
4.2 Protocolo de atividade física	38
4.3 Suplementação com cálcio	40
4.4 Sacrifício	42
4.5 Obtenção das imagens analisadas	44
4.5.1 Análise densitométrica	45
4.5.2 Densitometria óptica radiográfica	45
4.5.2.1 Padronização dos valores de densidade óptica	47
4.5.2.2 Equalização dos tons de cinza	48
4.5.2.3 Demarcação das regiões ósseas e cálculo da densidade óptica.....	50
4.5.2.4 Cálculo da densidade mineral óssea em mmAl.....	52
4.6 Análise estatística	52
5. Resultados	53
5.1 Análise da densidade mineral óptica	53
6. Discussão	58
7. Conclusão	62
8. Referências bibliográficas	63

Lista de Figuras

Figura 1 – Esteira elétrica utilizada para realização da atividade física	38
Figura 2 – Caixa com as 5 raias onde as ratas eram colocadas para correr na esteira.....	39
Figura 3 – Os animais em uma sessão de atividade física	39
Figura 4 – Animais durante a atividade física	40
Figura 5 – Forma farmacêutica utilizada como suplemento vitamínico	41
Figura 6 – Balança utilizada para aferição dos animais	42
Figura 7 – Tíbias utilizadas para aferição da análise densitométrica	43
Figura 8 – Tíbia utilizada para estudo	43
Figura 9 – Escala densitométrica	44
Figura 10 – Imagem radiográfica digitalizada	45
Figura 11 – Seleção do aumento em 3:1	46
Figura 12 – Imagem aumentada em 3 vezes para melhor visualização	46
Figura 13 - Seleção dos sete degraus da escala de referência de alumínio da imagem 1 (padrão)	47
Figura 14 – Imagem representativa da padronização da planilha e do gráfico dos valores da DO dos degraus da imagem padrão	48
Figura 15 – Seleção dos sete degraus da escala de referência da imagem a ser calculada (imagem 2).....	49
Figura 16 – Equalização da planilha e do gráfico dos valores da equalização das curvas representativas da escala de alumínio em azul referente à imagem 1 e curva em vermelho à imagem 2	49
Figura 17 – Visualização e demarcação das áreas a serem calculadas	50
Figura 18 – Seleção das áreas analisadas	51
Figura 19 – Cálculo da DO das regiões demarcadas	51

Lista de Tabelas e Gráficos

Tabela 1 – Necessidades diárias de cálcio segundo o <i>National Institute of Health</i> (1994)	26
Tabela 2 – Divisão dos animais em grupos experimentais	37
Gráfico 1 – Histograma dos valores de DMO dos grupos GC e GS	54
Gráfico 2 – Histograma dos valores de DMO referentes aos grupos GC e GE	55
Gráfico 3 – Histograma dos valores de DMO em relação aos grupos GC e GES ..	56
Gráfico 4 – Histograma dos valores de DMO referente aos 4 grupos experimentais	57

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ANOVA	-	Análise de Variância
DMO	-	Densidade Mineral Óssea
DO	-	Densidade Óptica
Kg	-	Kilograma
mmAl	-	Milímetros de Alumínio
PTH	-	Hormônio da paratireóide
SPA	-	Absorciometria de fóton de uma energia
DPA	-	Absorciometria de fóton de dupla energia
DXA	-	Absorciometria de raios X de dupla energia
BMD	-	Densidade Mineral Óssea
OB–OCSF	-	Fator Estimulado do Osteoclasto derivado do Osteoblasto
OB–OCIF	-	Fator Inibidor do Osteoclasto derivado do Osteoblasto
QCT	-	Tomografia Computadorizada Quantitativa
mm/Eq/Al	-	Milímetros Equivalentes de Alumínio
mm	-	Milímetro
cm	-	Centímetro
KVp	-	Kilovolts pico (kilovoltagem do aparelho de raio X)
mA	-	Miliamper

1. Introdução

A osteoporose foi reconhecida por meio de estudos epidemiológicos como o maior problema de saúde pública da atualidade. Afeta ambos os sexos, apresentando prevalência de 6:1 nas mulheres. É reconhecida como uma enfermidade associada ao envelhecimento caracterizada por perda progressiva de massa óssea e alteração da estrutura normal do tecido ósseo, com conseqüente aumento da fragilidade deste tecido e maior risco de fraturas (SHARP; DOHME, 2001). Durante Congresso Mundial da Fundação Internacional da Osteoporose (IOF), realizado em 2000, dados alarmantes sobre a osteoporose foram apresentados revelando que aproximadamente 200 milhões de pessoas no mundo estão sofrendo do distúrbio e as fraturas por fragilidade óssea tornaram-se um grande desafio em termos de saúde pública mundial (RUSSO, 2001).

A osteoporose vem assumindo nas últimas duas décadas, papel de destaque na sociedade mundial, por ser o distúrbio metabólico mais comum entre as mulheres pós-menopáusicas. Mulheres pós-menopáusicas constituem um segmento da população no qual o risco de osteoporose e de fraturas relacionadas a este distúrbio está associado a um evento biológico: a menopausa. O climatério promove variadas alterações nos diversos sistemas da mulher, incluindo o sistema ósseo. Estas alterações levam à perda de massa óssea em ritmo variável, podendo culminar em osteoporose, situação esta relevante na saúde da mulher (IQBAL, 2000).

Considerando que o custo social, familiar e financeiro devido às fraturas osteoporóticas é muito alto, pois o número de pessoas afetadas é grande e o tratamento a que são submetidas longo e oneroso. Nos Estados Unidos, a osteoporose é a maior ameaça para a saúde de 24 milhões de pessoas, 80% das quais são mulheres, sendo que 10 milhões já apresentam o distúrbio, que mata 37.500 pessoas por ano, decorrente de complicações posteriores às fraturas. Projetam-se gastos de 62 bilhões de dólares, com fraturas de quadril, nos Estados Unidos para o ano de 2020 (RAY et al., 1997).

Tendo em vista que esta enfermidade tem sua epidemiologia ligada à evolução da pirâmide populacional, estas estimativas para o futuro, em nosso país, oferecem perspectivas muito preocupantes. No Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população propensa à osteoporose aumentou de 7,5

milhões, em 1980, para 15 milhões no ano 2000. Conforme dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) esse distúrbio atinge um número cada vez maior de pessoas, tanto que sua estimativa prevê que no ano de 2005 haverá mais de 1 bilhão e 100 milhões de idosos para uma população mundial de 8 bilhões e 200 milhões de habitantes.

Tomando-se como premissa que os resultados do tratamento da osteoporose em estágios avançados costumam ser precários e pouco eficazes, mesmo com utilização da terapêutica hormonal de substituição, tem-se como certo que a prevenção durante a infância e adolescência, através de uma dieta adequada e atividade física, desempenha papel primordial na abordagem terapêutica deste distúrbio (PLAPER, 1997).

Por esta razão, nos últimos anos, maior ênfase tem sido dada às medidas profiláticas, procurando-se evitar que os pacientes atinjam o estado de osteoporose, com fraturas subseqüentes. A intervenção na osteoporose em nível primário deve fundamentar-se na prevenção dos fatores de risco significativos, ou seja, alimentação adequada e estilo de vida (DEMANS; FRASER, 1999).

Entretanto, a falta de programas definidos para prevenção da osteoporose, projeta um elevado número de indivíduos osteoporóticos, próximo a 4.300 milhões de indivíduos com este distúrbio por ano. Além disso, a diminuição da incidência de osteoporose iria certamente liderar a diminuição de outras condições associadas a ela, podendo-se, eventualmente, destinar maiores investimentos a outras áreas da saúde da mulher (DELMAN; FRASER, 1999).

Assim, é de extrema importância que se concentrem esforços para a maior educação e prevenção deste distúrbio, sendo que o papel da atividade física na prevenção da osteoporose é não somente favorecer a aquisição ou manutenção da massa óssea, como também desempenhar papel fundamental na melhora da qualidade de vida desses pacientes (DELMANS; FRASER, 1999).

2. Revisão da Literatura

2.1. Princípios Anátomos - Fisiológicos

O tecido ósseo é um dos mais resistentes e rígidos do corpo humano tendo como funções dar suporte aos tecidos moles, proteção para os órgãos vitais e alojamento e proteção da medula óssea, formadora das células do sangue. Os ossos funcionam como depósito de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os e/ou liberando-os de maneira controlada, mantendo constante a concentração destes íons nos líquidos corporais. Representa um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células como os osteoblastos, osteócitos e os osteoclastos além de material intracelular calcificado representado pela matriz óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

A matriz óssea é formada por cerca de 70% de material inorgânico e 30% de material orgânico. A parte inorgânica representa cerca de 50% do peso da matriz óssea. Os íons mais encontrados são fosfato e cálcio que formam cristais com uma estrutura muito semelhante a hidroxiapatita. Estes cristais se arranjam ao longo das fibras colágenas e são envolvidos por uma substância fundamental amorfa. A matriz orgânica, também denominada osteóide, representa um complexo formado por 95% de fibras colágenas e pequena quantidade de substância fundamental amorfa contendo agregados de proteínas como proteoglicanos e glicosaminoglicanos. A associação da hidroxiapatita com as fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência característica do tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; DOUGLAS, 1999).

A matriz celular do tecido ósseo é constituída por três tipos distintos de células: os osteoblastos originados a partir da proliferação de células mesenquimais osteoprogenitoras, localizadas na superfície de formação do tecido ósseo, responsáveis pelos componentes orgânicos da matriz extracelular. Caracterizam-se por apresentar retículo endoplasmático e complexo de Golgi muito desenvolvidos, devido a sua própria função de biossíntese e secreção de matriz orgânica. Os osteócitos são osteoblastos que, após mineralização do osteóide ao seu redor, tornam-se prisioneiros em lacunas ósseas. A partir destas lacunas partem prolongamentos dos osteócitos denominados canaliculos, com a finalidade de comunicação com as células vizinhas permitindo um fluxo

intercelular de íons e pequenas moléculas. O pequeno espaço entre os prolongamentos e as paredes dos canaliculos estabelece vias de transporte de nutrientes e metabólitos entre os vasos sanguíneos e os osteócitos situados na profundidade do tecido ósseo. Os osteoclastos, por sua vez, são células gigantes multinucleadas, originadas a partir de um precursor monocítico circulante, derivado de uma célula hematopoiética precursora localizada na medula óssea. Após atravessar as paredes dos capilares no tecido ósseo, os monócitos fundem-se para formar os osteoclastos. Caracterizam-se pela alta mobilidade e estão presentes na superfície óssea em frentes de reabsorção óssea. Seu citoplasma contém abundantes mitocôndrias, vacúolos e vesículas envolvidos no processo de reabsorção. Este tipo de célula move-se ao longo da superfície óssea, reabsorvendo osso e deixando uma lacuna de reabsorção no seu rastro denominada lacuna de Howship. A relação entre as células ósseas é onde o sistema canalicular cria a estrutura para um sincício funcional entre os osteócitos e osteoblastos. As conexões intercelulares entre esses dois tipos celulares são interrompidas nos pontos onde existem osteoclastos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

As superfícies internas e externas dos ossos são recobertas por células osteogênicas e tecido conjuntivo que formam respectivamente o endóstio e perióstio. O revestimento das superfícies ósseas é essencial para a manutenção do tecido, pois áreas de reabsorção óssea aparecem nos locais onde ocorreu perda desse revestimento. O endóstio é geralmente constituído por uma camada de células osteogênicas que revestem as cavidades do osso esponjoso, o canal medular e os canais de Volkmann e de Havers. O perióstio é formado por tecido conjuntivo denso, muito fibroso em sua parte externa e mais celular e vascular na porção interna. A principal função do endóstio é nutrir o tecido ósseo, pois dos seus vasos partem ramos que penetram nos ossos pelos canais de Volkmann e se comunicam com os canais de Havers, que contêm, em seu interior, vasos, nervos e tecido conjuntivo frouxo, além de fornecer novos osteoblastos (DI FIORE, 2001; SALGADO, 2002).

Como todos os tecidos vivos, o osso está constantemente remodelando-se. A quantidade de massa óssea presente no esqueleto é o resultado do balanço entre a formação e a reabsorção óssea num determinado período da existência humana. Ocorrem três estágios nessa dinâmica denominados de crescimento, consolidação e involução óssea. Cerca de 90% da massa óssea máxima se obtém durante a fase de

crescimento, que é similar ao crescimento somático. Logo, há uma fase de consolidação que dura até por volta dos quinze anos, e vai até os trinta e cinco anos. A partir dos trinta e cinco anos, começa uma etapa de involução, com perda de massa óssea progressivamente (DIEGOLI et al., 1995).

Durante o período de crescimento normal a quantidade de osso formado excede a do reabsorvido no processo de remodelação óssea. A massa óssea aumenta em ambos os sexos, dependendo de condições genéticas, atingindo o máximo em torno dos vinte a trinta anos de idade, quando então ocorre um equilíbrio entre a formação e a reabsorção do osso (AZEVEDO et al., 1997).

Nas mulheres após a puberdade, o conteúdo mineral ósseo e a resistência óssea continuam a aumentar lentamente até estabilizarem-se. Na quarta década de vida, a remodelação óssea passa a apresentar leve preponderância da reabsorção, iniciando assim a diminuição da massa óssea. Isso ocorre porque existe grande atividade osteoclástica e os osteoblastos, apesar de ativos, não conseguem reconstituir completamente as cavidades, sobretudo nos locais onde a trabeculação desaparece. Existe uma perda de 0,2 a 0,5% ao ano e após a menopausa em torno de 2 a 5% ao ano (LORENZI et al., 1994).

A diminuição do conteúdo mineral do osso acontece em todos os indivíduos durante o processo de envelhecimento e é causada pela perda da perfeita sincronia do metabolismo ósseo normal, que em níveis aumentados é denominada osteoporose (LORENZI et al., 1994).

2.2. Fatores que influenciam no metabolismo ósseo

Em relação à influência da atividade hormonal, tem-se especialmente o hormônio da paratiróide, a vitamina D e seus metabólitos, os hormônios da tiróide, hormônio do crescimento, insulina, estrógenos, testosterona e calcitonina. Um excesso de paratormônio aumenta o metabolismo dos ossos e diminui a massa óssea e um excesso de hormônios da tiróide pode ter efeitos similares. O estrogênio também influencia o funcionamento das células ósseas, pois em muitas mulheres, a massa óssea

começa a diminuir rapidamente depois da menopausa, e continua a diminuir com rapidez durante cinco a dez anos (DALSKY, 1989).

Na mulher pós-menopáusia ocorre redução da massa óssea principalmente trabecular, que está diretamente relacionada à deficiência estrogênica. Esse hormônio tem vários efeitos positivos sobre o osso, entre eles, a diminuição da reabsorção óssea, o aumento dos níveis de vitamina D e a modulação da função osteoblástica, estimulando a produção de colágeno tipo I. Ocorre, paralelamente, um aumento da sensibilidade óssea aos hormônios da paratireóide, determinando um aumento da reabsorção óssea anos (DALSKY, 1989).

O hormônio paratireóide (PTH), estimulador da reabsorção óssea, parece ter seu efeito antagonizado pelos andrógenos. Um decréscimo da atividade estrogênica leva a uma ligeira elevação dos níveis de cálcio no sangue com hipercalcinúria, resultando em balanço negativo do cálcio. Concentrações plasmáticas e urinárias de cálcio, fósforo e hidroxiprolina decorrente da degradação do colágeno, aumentadas, refletindo reabsorção óssea, têm sido relatadas em mulheres após a menopausa, particularmente naquelas em que esta foi induzida artificialmente. Estas alterações têm sido prevenidas em pacientes sob reposição estrogênica.

Não está claro quais funções osteoblásticas são moduladas pelos estrógenos e tem sido difícil demonstrar efeitos proliferativos ou de diferenciação dos estrógenos sobre os osteoclastos. Parece mais consistente, com base em estudos *in vivo*, que os estrógenos exerçam seus efeitos, diminuindo a atividade osteoblástica. Admite-se assim, que estrógenos atuam nos osteoblastos produzindo ou inibindo a produção de substâncias que controlariam a função osteoclástica. Por esse mecanismo, os estrógenos controlam de maneira indireta a função osteoclástica através da atuação direta no osteoblasto, pela elaboração de um ou mais fatores. Estes derivados dos osteoblastos, podem ser fatores estimuladores ou inibidores da atividade osteoclástica denominados respectivamente de OB-OCSF (fator estimulador de osteoclasto derivado do osteoblasto) e OB-OCIF (fator inibidor do osteoclasto derivado do osteoblasto). Os OB-OCSF poderiam ser inibidos pela ação estrogênica, enquanto os OB-OCIF seriam estimulados na presença desse hormônio (GIRASOLE, et al., 1992).

O OB-OCIF é liberado pelos osteoblastos em resposta à estimulação estrogênica, e esta citocina exerce potente ação mitogênica *in vitro* sobre células precursoras dos

osteoblastos. Por outro lado, também diminui diretamente a reabsorção osteoclástica e inibe o recrutamento de células precursoras dos osteoclastos da medula óssea. Dessa forma, os estrógenos poderiam atuar aumentando a produção de OB-OCIF inibindo assim, a atividade osteoclástica (GIRASOLE, et al., 1992).

A osteoporose é comum e, de acordo com os critérios da Organização Mundial de saúde, 1/3 das mulheres leucodermas acima de 65 anos são portadoras desta patologia. Cohn et al. (2000), examinaram o esqueleto e a massa muscular de mulheres negras normais e verificaram que sua massa óssea de corpo inteiro era 16,7% maior que mulheres brancas da mesma idade. Mais da metade dessa diferença (9,7%) foi atribuída à maior massa muscular apresentada pelas mulheres da raça negra. Estimou-se que cerca de 50% das mulheres com mais de 75 anos venham a sofrer fratura osteoporótica (GALI, 2001).

Em uma pesquisa realizada por Tylavsky et al. (1989), demonstrou - se que as filhas e mulheres com história materna de osteoporose apresentaram uma redução de 6 a 7% no conteúdo mineral ósseo do rádio ou uma redução da massa óssea vertebral em comparação com mulheres da mesma idade sem história familiar de osteoporose. Aproximadamente 50 a 80% da determinação do pico de massa óssea pode ser atribuído ao fator hereditário, porém, o estilo individual de vida pode concorrer com uma significativa proporção do componente não genético da densidade óssea.

A massa óssea presente na maturidade é um importante determinante da massa óssea em qualquer época subsequente. O processo de consolidação da massa óssea termina por volta dos 20 anos de idade e o declínio gradual tem início dos 30 aos 40 anos, mais acentuado nas mulheres após a menopausa. Desta forma, a menopausa prematura, seja idiopática ou cirurgicamente induzida, pode ser considerada um fator para perda óssea precoce. Uma mulher normal que sofre ooforectomia aos 40 anos, considerando - se que a idade normal esperada da menopausa é 50, deve apresentar 10 anos mais tarde o mesmo nível de massa óssea de uma mulher de 60 anos (MATSUDO; MATSUDO, 1991).

O envelhecimento é um fator importante para a involução óssea em ambos os sexos, e independente da diminuição dos hormônios sexuais. O decréscimo da massa óssea em função da idade, tem início por volta dos 30-40 anos de vida; ocorre lentamente (aproximadamente 0,5-1% do valor inicial por ano), é linear, contínuo e de

caráter irreversível, sendo que, o osso cortical apresenta maior correlação com a idade do que o trabecular. Entretanto, em um estudo de Dalsky (1989), realizado com tomografia computadorizada quantitativa (QCT), que permite a medida exclusiva do componente trabecular do osso vertebral, não encontrou correlação entre BMD e idade.

Essa diminuição da massa óssea tem sido associada à perda de outras funções tais como, diminuição do apetite, déficits hormonais e vasculares, diminuição da massa muscular ou diminuição da atividade física. O mecanismo da involução óssea está relacionado com um desbalanço entre formação e reabsorção óssea e não com um aumento do *turnover* ósseo (RIGGS; MELTON, 1986).

O envelhecimento é acompanhado por mudanças na composição química e nas estruturas macroscópicas do organismo, muitas vezes pouco aparentes, porém é o conjunto dessas alterações que dão origem às manifestações associadas à idade, como a osteoporose. Por volta dos 50 anos de idade, ocorre constante perda de tecido ósseo, diminuição dos osteócitos em número e atividade, levando ao desequilíbrio e perda de cálcio pela matriz. O componente compacto diminui pela reabsorção, os canais ficam mais amplos e o osso torna-se poroso e delgado. Na camada esponjosa ocorre a perda de lâminas ósseas, aumentando as cavidades entre as trabéculas e iniciando o processo de osteoporose (BROWN, 1988).

O alto consumo de cálcio no período pós-menopausa não pode evitar completamente a perda óssea, enquanto o consumo de cálcio abaixo de 1000mg/dia em mulheres pós-menopáusicas, potencialmente, leva ao balanço negativo de cálcio e agrava a perda óssea pós-menopausa, que poderá resultar em osteoporose. O tratamento da osteoporose sintomática tem tido sucesso limitado, portanto, a prevenção é preferível ao tratamento, já que o mesmo não restaura a massa óssea perdida (MURRAY, 1996).

A perda da massa óssea na mulher é mais complicada, antes da menopausa, provavelmente é semelhante à observada nos homens. Após a menopausa, entretanto, há uma elevação abrupta da taxa de diminuição da massa óssea, atingido valores médios de 2% ao ano, durante os próximos 5-10 anos, provavelmente, devido a deficiência estrogênica, superposta à perda óssea associada à idade. Assim, sendo, a deficiência estrogênica amplifica o processo de perda óssea, o que, por sua vez, explica, em grande parte, a maior incidência de fraturas das mulheres idosas do que nos homens da mesma idade. A perda óssea resultante da interrupção da atividade ovariana ocorre em todas as

principais regiões do esqueleto, incluindo a cabeça, braços, mãos, tórax, coluna vertebral, pelve e pernas. Entretanto, durante os primeiros anos da pós-menopausa, a proporção de osso perdido do esqueleto periférico, predominantemente, osso cortical difere da perda no esqueleto axial (osso cortical e trabecular) (JOHNELL, 1984).

Alguns estudos mostraram que o ganho de massa óssea na infância tem uma forte associação com parâmetros antropométricos. Para o peso corporal, esta correlação estende-se desde o primeiro ano de idade, enquanto que, para a altura, esta associação é evidente aos 5 anos (DEQUEKER et al., 1983).

2.3. Pico de Massa Óssea

A aquisição de massa óssea é gradual durante a infância e acelerada durante a adolescência até que a maturidade sexual seja alcançada. Em termos absolutos, isto representa um aumento no *pool* de cálcio do organismo de 25g ao nascimento, para 900-1300g na maturidade. O pico de massa óssea pode ser definido como a quantidade máxima de massa óssea que um indivíduo acumula desde o nascimento até a puberdade do esqueleto, ou seja, o valor máximo de massa óssea atingido antes do início da perda inexorável, associada ao envelhecimento. O pico de massa óssea é, juntamente com a perda óssea associada à idade, um dos dois principais fatores determinantes da massa óssea em idades mais avançadas e, portanto, da resistência ou susceptibilidade às fraturas. Quanto maior o pico de massa óssea, maior será a reserva óssea com o avanço da idade. Hoje, admite-se que o valor do pico de massa óssea possa ser influenciado pelo programa genético, carga mecânica, ambiente hormonal e nutricional da criança e adolescente (MALTKOVIC et al., 1994).

Alguns estudos mostraram que o ganho de massa óssea na infância tem uma forte associação com parâmetros antropométricos. Para o peso corporal, esta correlação estende-se desde o primeiro ano de idade, enquanto que, para a altura, esta associação é evidente aos 5 anos. Existem vários mecanismos pelos quais estes parâmetros antropométricos podem estar influenciando o ganho de massa óssea. Existem fortes contribuições genéticas, tanto para a altura quanto peso corporal, e, a partir de estudos em gêmeos e em famílias, verificou-se que esta influência genética pode estender-se

para o pico de massa óssea. Os níveis de osteocalcina são em parte geneticamente determinados e podem estar associados à variação alélica do gene que codifica o receptor da vitamina D (SMITH, et al., 1973).

A curva de ganho de massa óssea de crianças, mostra que a densidade mineral óssea (BMD) da coluna lombar aumenta logo após o nascimento para atingir um patamar estável ao redor dos 7-8 anos de idade. Este patamar divide o aumento do BMD na infância em dois momentos: o primeiro é o ganho de massa óssea desde o nascimento até 7-8 anos de idade e o segundo o ganho de massa óssea a partir do desencadeamento da puberdade até a maturidade. Isso indica que esta etapa dos 7-8 anos de idade pode ser estratégica para se estudar a influência de diferentes aspectos da puberdade. Nesse sentido, é interessante notar que as crianças pré-puberais não apresentam diferença de BMD quando estudadas em função do sexo ou raça, sendo que essas diferenças começam a aparecer e se tornam mais nítidas, a partir do final da adolescência e da maturidade (THOMAS, et al., 1990).

O momento em que o pico de massa óssea é atingido tem sido considerado por vários autores como ocorrendo tanto por volta dos 17 anos, quanto até os 35 anos de idade. Alguns estudos consideram que o pico se mantém por um breve período de tempo antes do início da perda óssea relacionada à idade, enquanto outros acreditam que ele permanece em um platô por vários anos. Um estudo com 265 mulheres, entre 8-50 anos, encontrou ambos os padrões, mas em diferentes regiões ósseas, sendo que a maioria das regiões atingiu o pico no final da adolescência ou no início da vida adulta. Outro estudo com 742 mulheres entre 20 e 69 anos agrupadas em função do peso corporal e idade encontrou diferentes momentos do pico de massa óssea, tanto na coluna lombar (L2-L4) quanto no colo do fêmur; sendo que as mulheres mais pesadas já apresentavam valores máximos de BMD por volta dos 20 anos, enquanto as mais leves tenderam atingir o pico entre os 30-39 anos (LINDSAY et al., 1986).

Todavia, acredita-se que pelo menos mais de 50% do pico de massa óssea seja atingido na adolescência, sendo que a maior velocidade de ganho de massa óssea ocorre no início da segunda década da vida, no momento da puberdade, e atinge um platô por volta dos 16 anos. Assim sendo, por alguns anos após cessar o crescimento, a massa óssea continua a aumentar durante a consolidação do esqueleto. Percebe-se, portanto,

que este período varia em duração e amplitude, em função do local do esqueleto, peso corporal e sexo (SOUTHARD et al., 1991).

2.4. Cálcio e o Pico de Massa Óssea

O Cálcio é um nutriente essencial e um dos principais componentes do esqueleto. O íon cálcio é importante na contração muscular, transmissão do impulso nervoso, coagulação sanguínea e adesão celular. A quantidade de cálcio óssea aumenta 30 a 40 vezes durante a maturação do esqueleto. O pleno crescimento e desenvolvimento ótimo do esqueleto requerem uma ingestão adequada de nutrientes, entre os quais o cálcio tem sido considerado como o mais importante determinante da BMD. Embora a contribuição dos fatores ambientais sobre a massa óssea seja de apenas 20%, estudos epidemiológicos sugeriram que variações na ingestão de cálcio durante a infância podem concorrer com uma diferença de 5 a 10 % no pico da massa óssea do adulto. Esta diferença determina um risco de fratura óssea do quadril 50% maior em indivíduos com idade mais avançada (SANDLER et al., 1985).

No processo de envelhecimento, ocorre uma perda da capacidade renal de produzir a forma ativa da vitamina D 1,25-dihidroxicolecalciferol, o que diminui a absorção intestinal de cálcio, que para ser mantido estável no sangue, é mobilizado no esqueleto por ação do paratormônio. Outros agravantes que se somam, piorando a perda óssea, são a dificuldade de ingerir e absorver a quantidade adequada de cálcio, devido à alta prevalência da atrofia da mucosa gástrica, o aumento do pH e a diminuição da exposição à luz solar (JÚNIOR et al., 1997).

O controle dos níveis plasmáticos de cálcio é realizado pelo PTH, a vitamina D e a calcitonina. O organismo retira cálcio do osso para manter a homeostase, portanto, dieta pobre em cálcio resulta em pior massa óssea e provavelmente em menor pico de massa óssea. Assim, o baixo suprimento de cálcio é considerado um fator de risco para o desenvolvimento da osteoporose. As necessidades diárias de cálcio são demonstradas na tabela 1.

Tabela 1 – Necessidades diárias de cálcio segundo o *National Institute of Health* (1994).

Idade	Necessidades Diárias de Cálcio
Crianças de 1 a 5 anos	800 mg/dia
Crianças de 6 a 10 anos	800 a 1200 mg/dia
Adolescentes	1200 a 1500 mg/dia
Adultos normais	1000 mg/dia
Gestação e Lactação	1200 a 1500 mg/dia
Climatério com terapia de reposição hormonal	1000 mg/dia
Climatério sem terapia de reposição hormonal	1500 mg/dia

Somente 20 a 30% do cálcio ingerido são absorvido e necessita da atuação de enzimas digestivas e pH relativamente ácido. A diferença entre o consumo médio de cálcio e o acréscimo percentual de líquido de cálcio esquelético é menor em adolescentes do sexo feminino do que em outras faixas etárias (como em homens de qualquer idade), indicando que a nutrição mineral inadequada pode facilmente ocorrer em adolescentes do sexo feminino. Portanto, para satisfazer a alta retenção esquelética, permitindo a excreção obrigatória de cálcio na urina e a variabilidade da absorção, o consumo de cálcio na adolescência deve exceder 1000mg/dia (SKARE, 1999).

Em um estudo realizado por Urbanetz et al. (1994), as mulheres cujo consumo de laticínios durante a adolescência foi insuficiente apresentaram massa óssea diminuída no período pós-menopausa. A dieta de cálcio é obviamente necessária para o crescimento ósseo, podendo ser incorporado ao novo osso durante o crescimento ósseo da adolescência tardia.

Segundo um estudo realizado por Heaney; Recker (1982), a suplementação de cálcio reduziu levemente o índice de perda óssea cortical conforme determinado por absorciometria de fóton único do antebraço e análise do cálcio do organismo.

Ao contrário, um estudo europeu avaliou 1116 adolescentes do sexo feminino e 526 mulheres adultas jovens em 6 países europeus, mostrando ausência de associação entre a ingestão dietética de cálcio e Densidade Mineral Óssea (DMO). Não foi evidenciada uma relação entre DMO e a ingestão de cálcio, considerando-se diferentes

níveis de cálcio dietético. Em um estudo de 15 anos mostraram que a ingestão de cálcio na adolescência, quando ajustada para a atividade física, não é um determinante para o pico de massa óssea (WELTON et al., 1994).

Em um estudo do qual participaram 677 mulheres caucasianas entre 18 e 35 anos, foi avaliado os fatores relacionados ao estilo de vida, história menstrual, condições médicas, história familiar de osteoporose, sendo que a ingestão de cálcio não foi considerada neste estudo um fator isoladamente significativo determinante do pico de massa óssea (RUBIN et al., 1999).

De acordo com Johnston et al. (1992), os benefícios da suplementação de cálcio foram modificados pela maturação sexual em 79 pares de gêmeos idênticos. Assim, gêmeos pré-púberes que receberam suplementos de cálcio tiveram um grande aumento na densidade óssea ao nível do rádio e corpos vertebrais em relação aos pares controles. Entretanto, os autores não detectaram diferença na DMO entre o grupo suplementado com cálcio e o grupo controle na fase púber e pós púber.

2.5. Atividade Física e o Pico de Massa Óssea

A estrutura óssea começa seu processo de remodelação com o estresse mecânico. Segundo a lei de Wolf (1892), citada por Perpignano et al (1996), os ossos se formam e se remodelam em resposta às forças mecânicas que lhes são aplicadas e existe relação entre o nível de atividade física e o volume do osso. Além disso, a força mecânica proporcionada pelo exercício é que estimula a atividade osteoblástica formadora de tecido ósseo.

A adaptação básica do tecido ósseo aos exercícios é o aumento de sua massa com maior quantidade de matriz protéica bem calcificada. Esse efeito é estimulado pela sobrecarga gravitacional, que vem a ser a aplicação de forças compressivas sobre o esqueleto. Muitos exercícios produzem apenas forças de tração sobre os ossos, e apesar de contrações musculares vigorosas, o efeito na massa óssea é pequeno. A sobrecarga gravitacional nos exercícios pode ocorrer pelo aumento do peso suportado pelos ossos, como é o caso da maioria dos exercícios com pesos, ou pelo mecanismo do impacto. Por impacto entende-se a desaceleração rápida do corpo em movimento, como por exemplo, a ação do solo na corrida e nos saltos. O impacto tem efeito desejável de

estimular a massa óssea, mas também é um fator de lesão, podendo produzir fraturas agudas quando muito intenso, ou fraturas crônicas quando o volume de treino for excessivo. O impacto também é frequentemente responsabilizado por micro-lesões das cartilagens articulares. Os exercícios com pesos são os mais eficientes para estimular a massa óssea e não apresentam o inconveniente do impacto. Exercícios de alongamento praticamente não têm efeito estimulante de massa óssea (SANTARÉM, 1996).

Segundo Santarém (1996), O volume dos músculos esqueléticos pode ser estimulado pelos exercícios devido às sobrecargas tensional e metabólica. Sempre que a contração muscular encontra uma resistência, ocorre tensão em todas as estruturas do músculo. Essa tensão aumentada estimula os mecanismos de hipertrofia, hiperplasia e proliferação conjuntiva. O metabolismo energético aumentado durante os exercícios caracteriza uma forma de sobrecarga metabólica conjuntiva, que estimula a hidratação e vascularização dos músculos. A hipertrofia é o mecanismo mais importante para explicar o aumento de volume dos músculos e consiste no acúmulo de proteína contrátil nas fibras, tanto brancas quanto vermelhas. A hiperplasia muscular consiste no aumento do número de fibras, por fragmentação das fibras musculares esqueléticas. Atualmente está documentada a proliferação das fibras musculares a partir das células satélites, mas a hiperplasia poderá não ocorrer, se houver a destruição de fibras durante o exercício que pode ocorrer na mesma proporção da proliferação, o que parece depender mais do volume do que da intensidade do treinamento.

A proliferação do tecido conjuntivo funcional do músculo, ou seja, endomísio, perimísio e epimísio, apresenta uma pequena contribuição para o volume muscular. A maior hidratação do músculo treinado decorre do aumento das reservas de glicogênio, que é repostado no período de recuperação dos exercícios. Cada grama de glicogênio retém quase três gramas de água, e a quantidade de glicogênio pode triplicar no músculo treinado. Este mecanismo é responsável pelo aumento da consistência do músculo treinado, fenômeno conhecido como “tonificação”. Na realidade, o aumento real de tônus muscular é um fenômeno passageiro, restrito ao pós-exercício imediato. A vascularização muscular aumenta quando estimulada por diversos fatores mediadores, entre eles o ácido láctico, com a finalidade de levar mais oxigênio e nutrientes para o músculo em exercício e para otimizar a remoção de catabólitos. Os exercícios com peso são os mais eficientes para estimular todos os mecanismos responsáveis pelo aumento

de volume muscular, principalmente quando realizado com cargas que permitam repetições entre seis e doze. Os exercícios aeróbios apresentam apenas um discreto aumento de volume por hidratação e vascularização, que se instala nos períodos iniciais de sua prática, não ocorrendo aumento volumétrico progressivo. Exercícios de alongamento produzem discreto estímulo de volume muscular por sobrecarga tensional (SANTARÉM, 1996).

Em 1957 foi demonstrado o efeito pizoelétrico, que pode ser definido como a deformação de um osso provoca cargas negativas no lado da tensão – ação dos osteoblastos – e positivas do lado da tração – ação dos osteoclastos. Isto, em outras palavras, quer dizer que a remodelação seria controlada pela polaridade, onde cargas positivas favorecem a ação dos osteoclastos, e cargas negativas favorecem a ação dos osteoblastos. A regulação dessa força é medida pela sobrecarga mecânica, sendo que a resposta é imediata, especificamente para o osso que está suportando a carga, o qual estimula os osteoblastos dentro da região da sobrecarga. Com isso, o estresse mecânico provocado pelo exercício é maior, principalmente em atividades que tenham maior tração óssea. Ou seja, quanto maior o estímulo da matriz óssea, maior é a formação ou regeneração óssea (PLAPER, 1997).

A sobrecarga mecânica da sustentação de peso é provavelmente o fator exógeno mais importante a afetar o desenvolvimento ósseo e o pico de formação da massa óssea, bem como a afetar a manutenção e integridade da mesma, posteriormente, através de sua ação na remodelagem óssea (KOTTKE; LEHMANN, 1994).

Indivíduos que praticam atividade física na infância e adolescência têm maior pico de massa óssea, sendo que um dos principais requisitos para a formação óssea é a força da gravidade. Carga (gravidade) e contração muscular são as mais importantes forças mecânicas aplicadas ao osso, sendo que a massa óssea aumenta com maior atividade com carga ou contração muscular, ou com ambas, e diminui com a imobilização ou falta de carga. A incidência de osteoporose é maior no hemisfério ocidental, o que pode vir a ser decorrente, em parte, à falta de atividade física da população. Tem-se observado um aumento no cálcio corporal total e no teor mineral ósseo vertebral após exercício moderado em pacientes com osteoporose, o que indica que a atividade diária de sustentação de peso é essencial à saúde do esqueleto (PLAPER, 1997).

Evidências demonstraram que estímulos de longa duração não resultarão em resposta óssea se não forem potentes o suficiente para serem detectados pelo osso. Assim, percebe-se que exercícios como levantamento de peso, onde existe aumento da carga, são mais efetivos que aqueles onde a base seja o número de repetições. Para atividade física, segundo o American College Sports Medicine (1995), recomenda-se à frequência de 3 a 5 vezes por semana com intensidade de frequência cardíaca entre 60 a 90% da máxima. A duração deve ser de 20 a 90 minutos com atividades que envolvam grandes grupos musculares, que possam manter continuamente atividade aeróbica contra resistência e utilização de grande quantidade de oxigênio.

Em um estudo feito com o objetivo de medir o efeito da atividade física no conteúdo mineral ósseo, Margulies et al. (1986), observaram o efeito da atividade física intensa no conteúdo mineral de membros inferiores de adultos jovem. Eles estudaram 268 homens recrutados, de 18-21 anos de idade, que foram avaliados antes e depois de 14 semanas de treinamento físico intenso. O conteúdo mineral dos membros inferiores foi mensurado em nível do terço distal da tíbia, usando a absorciometria de fóton simples. Os indivíduos começaram o treinamento com valores iguais em ambos os membros. Durante o período de treinamento, a média de conteúdo mineral ósseo da perna esquerda incrementou-se 11,1%, na perna direita, 5,2%, diferença que os autores não conseguiram explicar. Os indivíduos submetidos ao estudo que não completaram o treinamento apresentaram fraturas por *stress* e o incremento no conteúdo mineral ósseo foi significativamente menor do que aqueles que completaram o programa. Este estudo demonstra que altos níveis de atividade física, além de provocar incremento na massa óssea, podem causar fraturas por *stress* indicando que o excesso de atividade, em vez de benéfica, torna-se prejudicial.

Going et al. (1991), estudaram um grupo de mulheres na pré-menopausa que fizeram treinamento com peso durante 18 semanas e compararam com o grupo controle. Mensurando a densidade óssea da colina lombar (L1-L4), colo de fêmur, trocânter e triângulo de Ward, acharam incremento de 0,7% para L2; 2,2% para L4 e 0,9% para L1-L4 no grupo treinado, enquanto no fêmur só houve incremento na região trocantérica, e resultados similares foram obtidos por Stillman (1991). Entretanto, os trabalhos de Frisancho et al. (2001), não acharam relação significativa entre o nível de atividade física e a densidade óssea, mostrando assim a variabilidade desta relação, dependendo

dos sujeitos de estudo, a forma de classificação do nível de atividade física, o método e o local de aferição da densidade óssea.

Desta forma, o papel do exercício físico na prevenção da osteoporose é controverso. Não se sabe quanto de exercício é necessário e se existe uma maneira ideal de ser realizado para a formação dos ossos. Porém, um fator é certo: a inatividade física tem uma influência negativa na remodelação óssea. A imobilização pode levar a perda importante em alguns locais do corpo sendo que a média de perda óssea é de aproximadamente 4% por mês na fase inicial do repouso no leito, enquanto que a carga repetida com intensidade e tensão adequadas resultam na hipertrofia do osso (PLAPER, 1997).

2.6. Fatores ligados à prevenção

Estudos realizados por Weinstein; Buckwater (1994), avaliando a densidade óssea em mulheres com idade entre 20 e 50 anos indicaram que o pico de massa óssea é conseguido ao final ou logo após atingido o crescimento linear do esqueleto.

A diminuição na intensidade da osteoporose é feita através de prevenção, diagnósticos precoces e precisos, aumento das pesquisas e acessibilidade à informação. Não existe intervenção médica para reverter, completamente, os efeitos da osteoporose, e a maior “ferramenta” para redução da incidência da mesma, é a prevenção através da educação dos hábitos de vida (DELMANS; FRASER, 1999).

Evidências indicam que mulheres jovens podem ter um aumento de sua massa óssea, promover por longo período a saúde do osso e reduzir o risco de doenças no futuro, seguindo uma dieta efetiva, exercícios que priorizem carga mínima necessária para induzir a formação óssea, e hábitos de vida saudáveis. Aderir a um comportamento de vida saudável também ajuda a garantir melhor qualidade de vida no envelhecimento futuro. Porém, a maioria das meninas adolescentes não realizam as etapas necessárias para promover a saúde do osso e as conseqüências negativas para a saúde, seguidas de fraturas osteoporóticas, freqüentemente, resultam em aumento da dependência do indivíduo para movimentar-se, comprometendo não somente a saúde física, mas a qualidade geral de vida de mulheres acometidas por este distúrbio (PLAPLER, 1997).

Assim, pode-se dizer que a abordagem mais eficiente com relação à osteoporose, se levarmos em conta o custo-benefício é a prevenção. O risco da osteoporose pode ser reduzido, se conseguirmos um aumento no pico de massa óssea ou se diminuirmos a taxa de perda óssea. Em condições fisiológicas isto pode ser conseguido com uma dieta alimentar adequada, rica em cálcio, exposição adequada ao sol e a prática de atividade física que priorize carga mínima necessária para induzir o ganho ósseo (PLAPER, 1997).

2.7. Densitometria Óptica Radiográfica

A densidade óptica pode ser definida como a medição da intensidade de escurecimento de uma película radiográfica após o seu processamento através de uma comparação com uma escala de alumínio denominada penetrômetro. A densidade óptica pode ser medida de diversas maneiras entre as quais através de um aparelho específico denominado fotodensitômetro ou utilizando-se programas computacionais específicos, não existindo, ainda, uma unidade de medida para a mesma. (FENYO-PEREIRA et al., 1999; WHAITES, 2003).

A densitometria óptica radiográfica é utilizada para a mensuração da densidade mineral óssea (DMO) por meio de imagens radiográficas, apresentando grande importância na área de pesquisa e clínica pela capacidade de auxiliar o profissional de saúde a compreender e avaliar o processo de mineralização óssea com boa precisão e sensibilidade, reprodutibilidade, fácil aplicabilidade e baixo custo (STERMAN, 2001), salientando-se que o tempo de execução é pequeno, excluindo a necessidade de qualquer procedimento anestésico.

A avaliação da DMO assume importância clínica e experimental em diversas áreas relacionadas à saúde, na medida em que contribui para o diagnóstico de osteopenia, predição do risco de fratura, monitoração seriada da DMO em resposta a patologias como a osteoporose, auxílio nas intervenções cirúrgicas e terapêuticas possibilitando estratégias preventivas relacionadas direta ou indiretamente ao metabolismo ósseo (MURAMOTO, 2003).

Os intensos avanços tecnológicos das últimas décadas têm permitido o desenvolvimento e/ou aprimoramento de diversos métodos para avaliação da DMO com

características distintas entre si no que se refere à praticidade da técnica, precisão dos resultados, custos, tempo de execução e aplicabilidade. As diferentes características de cada método densitométrico permitem classificá-los nas categorias invasivo ou não invasivo e radiológico ou não radiológico (LOUZADA et al., 1998).

Entre os métodos invasivos estão incluídos a histomorfometria, a microrradiografia, a espectrofotometria por emissão atômica e a análise de cinzas. Tais técnicas, porém, não permitem a avaliação sequencial da evolução da densidade mineral óssea em um mesmo indivíduo, sendo necessária a eutanásia de múltiplos grupos de animais durante o período do experimento. Na categoria não invasiva e não radiológica destacam-se a ressonância magnética e a ultra-sonografia (CHILVARQUER, 2000; LOUZADA et al., 1998).

Como métodos radiográficos não invasivos incluem-se a absorciometria de fótons de uma energia (SPA), a absorciometria de fóton de dupla energia (DPA), a absorciometria de raios X de dupla energia (DXA), a tomografia computadorizada quantitativa (QTC) e a densitometria óptica radiográfica (LOUZADA et al., 1998). Cada uma destas técnicas possuem suas particularidades e custos elevados, que inviabilizam seu uso pela maioria da população.

Em se tratando de métodos não invasivos, muitos autores têm utilizado o alumínio como referencial densitométrico, assim, Carvalho et al. (1978 apud SCARPARO et al., 1995) são responsáveis pelo desenvolvimento de uma escala de alumínio denominada penetrômetro para o estudo da densidade óptica do tecido ósseo. O alumínio foi utilizado para a confecção da escala de referência por se tratar de um material com coeficiente de absorção à radiação X similar ao do tecido ósseo.

Apesar de ser uma técnica conhecida desde a primeira metade do século XX, a densitometria óptica radiográfica esteve abandonada por muitos anos, porém com o intenso avanço tecnológico na área computacional e no processamento das imagens, este método ressurgiu com maior aceitação, devido à possibilidade de uma análise mais acurada e elaborada (MURAMOTO, 2003).

A grande dificuldade nas análises densitométricas em radiologia é a de reprodutibilidade das densidades ópticas de uma mesma estrutura em sucessivas tomadas radiográficas. Decorre, então, a grande importância da padronização de todos os parâmetros utilizados nas tomadas radiográficas, para que as medidas

densitométricas possam ser comparadas sem nenhum fator de correção (CARVALHO et al., 1976).

Para uma correta análise densitométrica é de fundamental importância a padronização das radioluscência e radiopacidade das imagens radiográficas. Um dos métodos para avaliação da densidade óptica pode ser realizado através da medição do negrume do filme por um fotodensitômetro que compara a intensidade da luz que entra, em uma determinada área de um lado do filme revelado, com a intensidade daquela luz quando ele emerge pelo outro lado (LANDIM, 2002).

Análises de leituras ópticas da densidade mineral óssea podem também ser realizadas através de um programa de informática criado especificamente para a técnica radiográfica denominado DENS, que opera em 256 tonalidades de cinza, comparando as imagens do tecido ósseo com a escala presente na mesma radiografia, expressando os valores em milímetros de equivalência de alumínio (mm/Eq/Al). Em estudos realizados por Scarparo et al. (1995); Garcia et al. (1996); Puppin et al. (1998), sobre os valores de leitura óptica da densidade óssea através de radiografias periapicais com auxílio do penetrômetro de alumínio, obtiveram dados densitométricos satisfatórios analisados por este programa específico.

Atualmente muitos estudos têm utilizado a técnica de densitometria óptica radiográfica por meio de um software específico para o processamento e análise de imagens denominado ImageLab desenvolvido pela empresa Softium Sistema de Informática Ltda. Me. (STERMAN, 2001; HAYEK, 2002; MURAMOTO, 2003). Este programa computacional é capaz de determinar a densidade mineral óssea equivalente em mmAl, através do cálculo da DO relacionando-a com uma escala de alumínio, padronizada e equalizada, de acordo com os parâmetros do programa. Os autores obtiveram bons resultados, alcançando seus objetivos que se relacionavam com a determinação dos valores normais de DMO através de uma técnica de fácil execução, boa sensibilidade e baixo custo.

Em estudos realizados por Bodner et al. (1993), os autores afirmaram que o uso de radiografias ainda representa o melhor método não cirúrgico para detecção de formação óssea na existência de lesão. Para os autores, a análise da densitometria em radiografias de rotina realizadas com auxílio de uma escala padrão de alumínio, possibilitam, na prática odontológica, a aferição do estado de cicatrização alveolar.

Relataram também que a formação de osteóide e de mineralização são expressas radiograficamente pelo aumento na radiopacidade, resultante de maior densidade óptica da imagem óssea.

Sterman (2001), com o intuito de demonstrar a eficácia da Densitometria Óptica Radiográfica em relação aos outros métodos de análise mineral realizou estudos em equinos atletas, utilizando 40 animais, destinados ao Enduro Equestre, divididos em 2 grupos contendo 20 machos e 20 fêmeas cada. Foram realizadas radiografias simples do osso acessório do carpo dos equinos ao lado de uma escala de alumínio. A digitalização das imagens radiográficas e análise através do programa ImageLab, permitiu a obtenção dos valores finais de densidade óptica em mm/Al. Os resultados confirmaram a densidade mineral óssea dos animais através da análise de densidade óptica onde para machos a DO foi de 4,7030 mm/Al e para fêmeas de 4,2900 mm/Al. O método se mostrou preciso, confiável, seguro e de baixo custo.

Muramoto (2003), estabeleceu valores de densidade mineral óssea (DMO) das regiões metafisária e diafisária do rádio de cães da raça Poodle por meio da Densitometria Óptica Radiográfica. O grupo experimental foi composto por 112 cães, separados em diferentes categorias de acordo com sexo e idade. As densidades ópticas foram medidas por meio do software de processamento de imagens ImageLab, cuja aplicabilidade foi testada para determinação de valores de referência de DMO, comparando-os a uma escala padrão, confeccionada em alumínio, radiografada junto ao osso. Foram estudadas as correlações entre os valores de DMO e as variáveis de peso, idade, sexo, largura e espessura do terço distal do radio-ulna direito, verificando-se que a equação de variação de DMO em função do peso foi a que melhor conseguiu explicar a variação da densidade.

3. Proposição

Este trabalho objetivou avaliar a eficácia da atividade física aeróbica na aquisição de massa óssea, associada ou não à suplementação com cálcio, na faixa etária em que há maior alcance do pico de massa óssea, por meio da análise densitométrica realizada em tíbias de ratas.

4. Material e Métodos

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Univap sob o protocolo de número L025/2004/CEP, conforme Anexo 4.

4.1. Animais

Para este estudo foram utilizadas 40 ratas da raça Wistar (*Rathus norvegicus*, *variação albinus*), recém-desmamadas, com peso inicial de $50 \pm$ devpad, alimentadas com ração LABINA e água *ad libitum*, alojados em gaiolas e em ambiente climatizado (23°), no Biotério do Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento da Univap (IP&D).

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, conforme demonstrado na tabela 2.

Tabela 2 – Divisão dos animais em grupos experimentais.

Grupo	Número de animais
Controle (GC)	05
Exercício(GE)	05
Suplementado(GS)	15
Exercício+ Suplementado (GES)	15

Para divisão desses grupos, foi utilizado um protocolo de adaptação à esteira elétrica por 3 dias, com duração de 10 min.dia^{-1} , velocidade de 12 m.s^{-1} , 0% de inclinação (DISHMAN et al., 1988). Os animais foram classificados com notas de 0 à 5 e as ratas que obtiveram as melhores notas distribuídas aleatoriamente nos grupos Exercício (GE) e Exercício + Suplementado (GES).

4.2. Protocolo de Atividade Física

Os animais escolhidos para participar dos grupos GE e GES, foram submetidos a um protocolo adaptado de atividade física durante 12 semanas consecutivas em uma esteira elétrica com 0% de inclinação (figura 1), correndo 40 minutos por dia, 5 dias por semana, com velocidade progressiva de 12 até 18 m.s⁻¹, com aumento de 2m.s⁻¹ a cada 3 semanas (DISHMAN et al., 1988).

Para a realização da prática de atividade física, a esteira foi colocada em uma sala totalmente escurecida e as ratas foram distribuídas em 3 unidades de contenção, cada uma com 5 raia, conforme representado nas figuras 2 e 3, escurecidas parcialmente com uma fita. Assim, 15 ratas realizaram a atividade física concomitantemente (figura 4). O escurecimento da sala e de parte das raia foi realizado a fim de obedecer ao ciclo claro-escuro dos animais e facilitar o procedimento experimental, uma vez que os animais, instintivamente, correm para a parte escurecida da raia (DISHMAN et al., 1988).



Figura 1 – Esteira elétrica utilizada para a realização da atividade física.

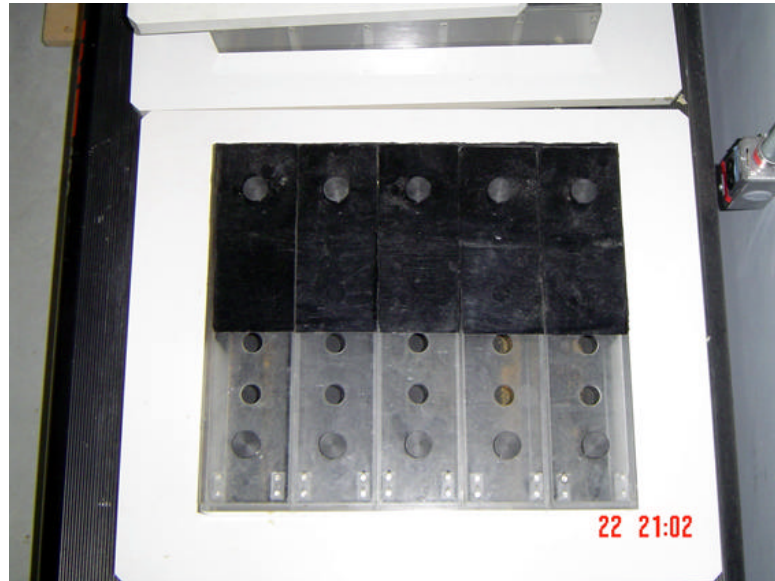


Figura 2 - Caixa com as 5 raias onde as ratas eram colocadas para correr na esteira.

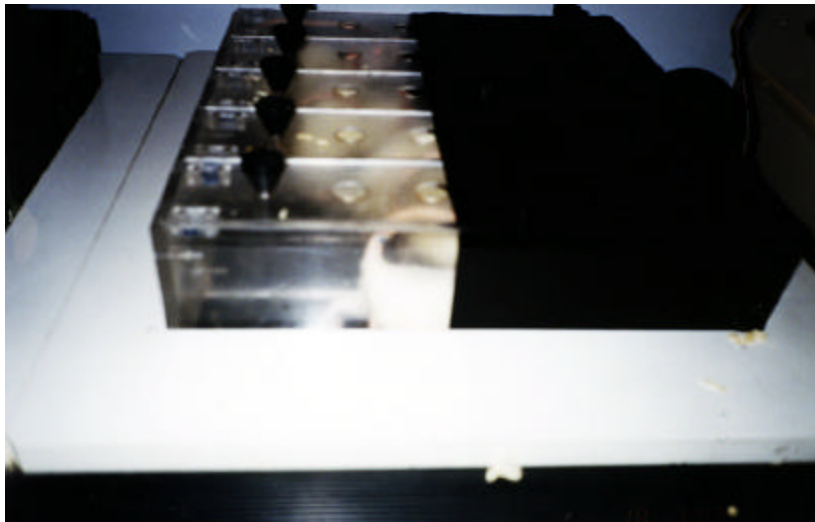


Figura 3 - Os animais em uma sessão de atividade física.



Figura 4 –Animais durante a atividade física.

4.3. Suplementação com Cálcio

Os grupos suplementados com cálcio tiveram dieta controlada, com a administração via oral de Calcigenol suplemento vitamínico (figura 5), o qual a dosagem obedeceu à posologia utilizada em humanos: de 6,4 mg/dia/quilo.

De acordo com o peso das ratas, aferido quinzenalmente (figura 6), o cálcio foi misturado à quantidade de água ingerida diariamente pebs animais durante o período experimental.



Figura 5 –Forma Farmacêutica utilizada como suplemento vitamínico.

Calcigenol: composto B₁₂

Indústria Farmacêutica: Aventis

Fórmula: Fosfato tri-cálcio, vitamina B₁₂ e D₂, fluoreto de sódio

Função: recalcificante

Lote: 2434 – J

Validade: após 4 anos da data de fabricação.



Figura 6 – Balança utilizada para aferição dos animais.

4.4. Sacrifício

Ao final do período experimental de 12 semanas, todos os animais foram sacrificados, as tíbias retiradas (figuras 7 e 8) da para análise da densidade mineral óssea através de programa específico, Imagelab. Para o sacrifício dos animais, foi administrado, injeção intramuscular (seringa e agulha estéril, descartável B.D. ^R) de Zoletil ^R 0,8 ml/Kg i.m. Após 10 minutos foi administrado Tiopental ^R (barbitúrico-Crystália ^R) na dose de 0,43ml/Kg i.v. Decorridos 5 minutos, administrou-se cloreto de potássio (Ariston 19,1%, 2,559mEq/ml) na dose de 5ml/Kg i.v. A região tibial foi removida, o tecido mole excedente eliminado, e as amostras acondicionada em frascos com solução de formol a 10% até serem processados.



Figura 7 – Tíbias utilizadas para a análise densitométrica.



Figura 8 – Tíbia utilizada para o estudo.

4.5. Obtenção das Imagens Analisadas

As peças foram radiografadas utilizando-se aparelho de Raio X odontológico Philips, modelo Oralix, com filme oclusal Kodak Ektaspeed Plus EO-41P, distância focal de 40 cm, tempo de exposição de 0,25 segundos, com 10mA e 65kVp. As películas foram colocadas sobre um suporte de madeira contendo uma marcação, para o posicionamento correto da película, promovendo assim, uma incidência perpendicular do raio central em todas as exposições.

Entre as amostras foi posicionada uma escala de referência densitométrica, confeccionada em alumínio, contendo 8 intervalos com 7 degraus medindo 5mm de comprimento por 0,4mm de espessura cada. O primeiro degrau possui 0,5 milímetros (mm) de altura e os demais aumentam de 0,5 em 0,5 mm até atingir 4 cm de altura no que corresponde ao sétimo degrau (Figura 9).

As películas foram reveladas em processadora automática Gendex GXP, utilizando-se fixador e revelador Kodak, a uma temperatura de 27 °C e com tempo de processamento de 4 minutos. As imagens radiográficas foram digitalizadas e armazenadas.



Figura 9 – Escala Densitométrica.

4.5.1 Análise Densitométrica

A região tibial foi submetida a Densitometria Óptica Radiográfica através de tomadas radiográficas simples da região tibial ao lado de uma escala de alumínio denominada penetrômetro, sobre filme oclusal a uma distância focal de 40 cm e revelação em processadora automática. As imagens radiográficas foram digitalizadas e analisadas por um programa específico para a comparação de tonalidades (Imagelab, Softium Sistemas de Informática), obtendo-se assim os valores finais de densidade mineral óssea em mmAl.

4.5.2. Densitometria Óptica Radiográfica

As imagens digitalizadas foram analisadas por um programa específico para a comparação de tonalidades (Imagelab, Softium Sistemas de Informática), obtendo-se assim as leituras das densidades ópticas (DO) referentes aos valores finais de densidade mineral óssea (DMO) em mmAl (figura 10). Para melhor visualização da região analisada foi realizado um aumento da imagem numa proporção de tamanho de 3:1, ou seja, três vezes o seu tamanho original (figuras 11 e 12).

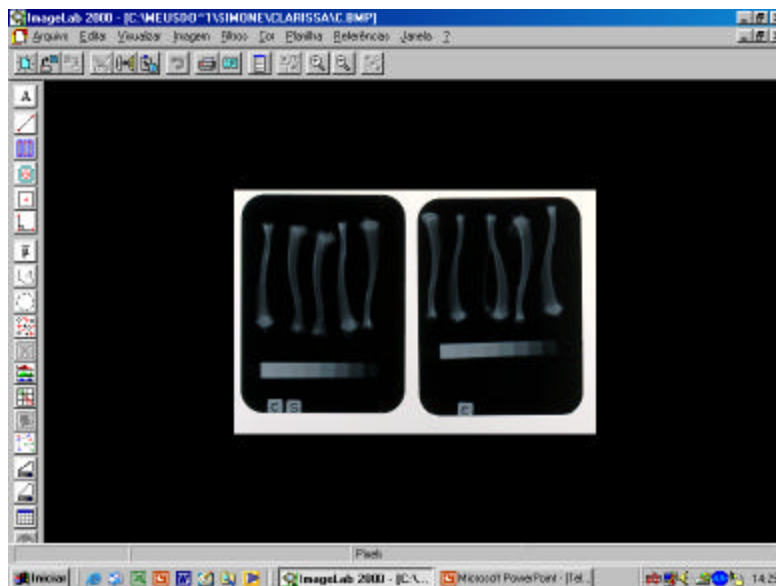


Figura 10 – Imagem radiográfica digitalizada.

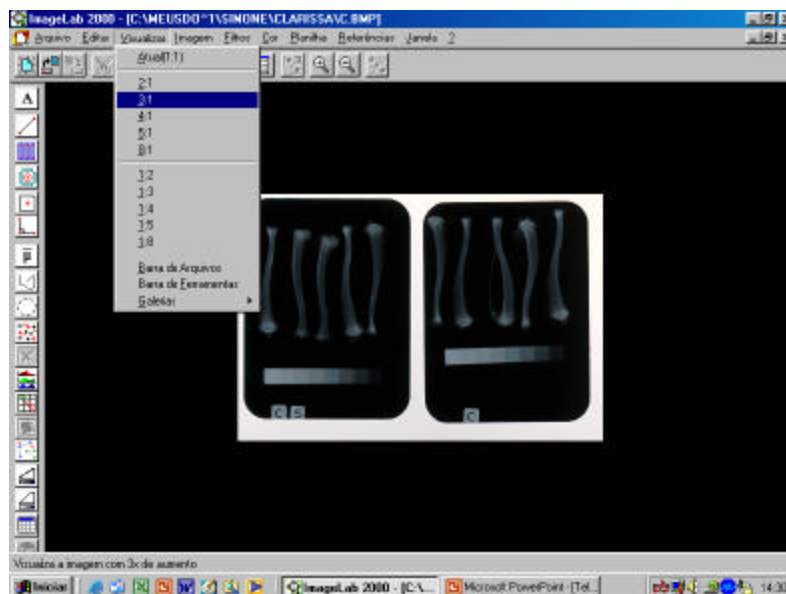


Figura 11 – Seleção do aumento em 3:1.

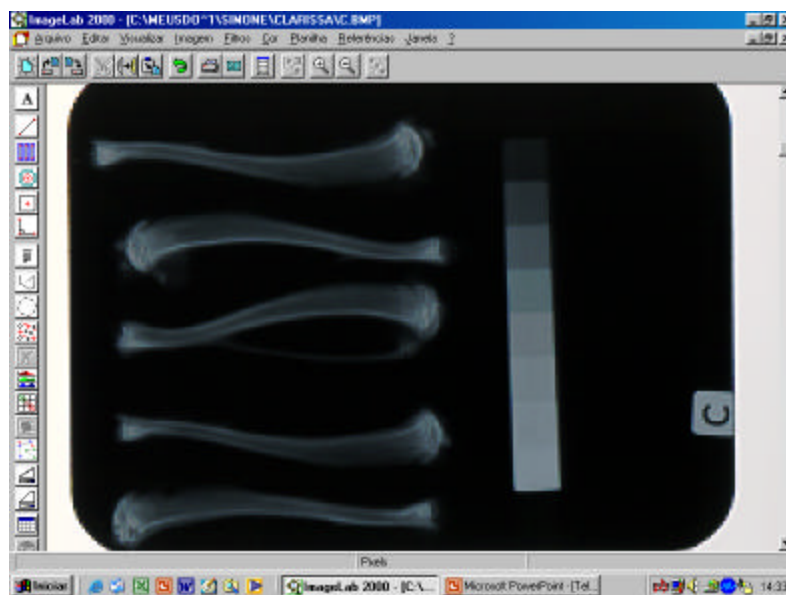


Figura 12– Imagem aumentada em 3 vezes para melhor visualização

4.5.2.1. Padronização dos Valores de Densidade Óptica

Para a padronização dos valores da DO em relação aos degraus da escala de alumínio, obteve-se um arquivo contendo a imagem padrão sendo selecionados os sete primeiros degraus da escala de referência de alumínio (figura 13). A partir desta seleção abriu-se uma planilha contendo os valores da DO de cada degrau da imagem da escala. A DO varia de 1 a 7 conforme o degrau da escala, sendo que o programa computacional considera o primeiro degrau mais radiotransparente, com DO de valor 1, o segundo degrau de valor 2, e assim sucessivamente até atingir o 7º degrau, mais radiopaco com valor igual a 7. Lateralmente à planilha aparece o gráfico representando a curva densitométrica, cujo eixo X representa as densidades ópticas (de 1 a 7) e o eixo Y representa os tons de cinza, que variam neste programa de 0 (preto) a 256 (branco) tons (figura 14). O botão “Padronizar” permite manter este arquivo como imagem padrão sem manipulá-lo mais, com a finalidade de que todos os próximos arquivos, abertos em seqüência, sejam comparados a este padrão.

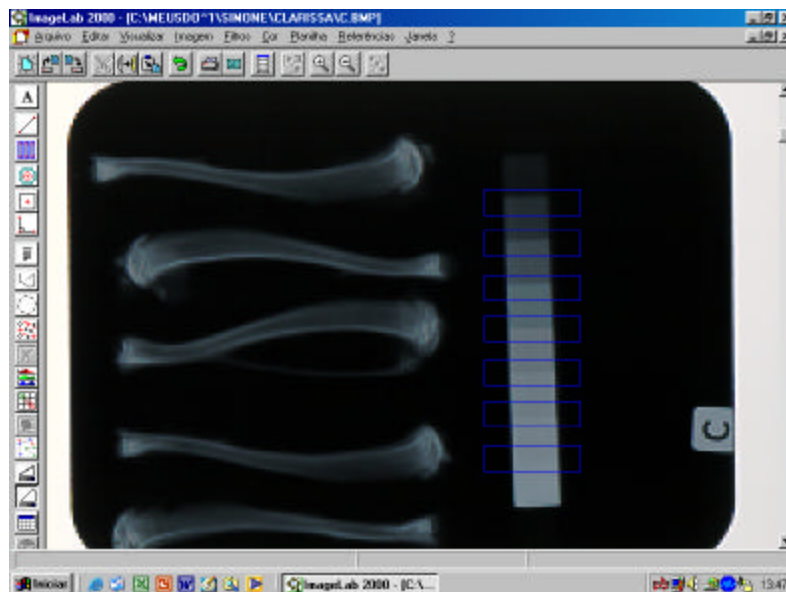


Figura 13 – Seleção dos sete degraus da escala de referência de alumínio da imagem 1 (imagem padrão).

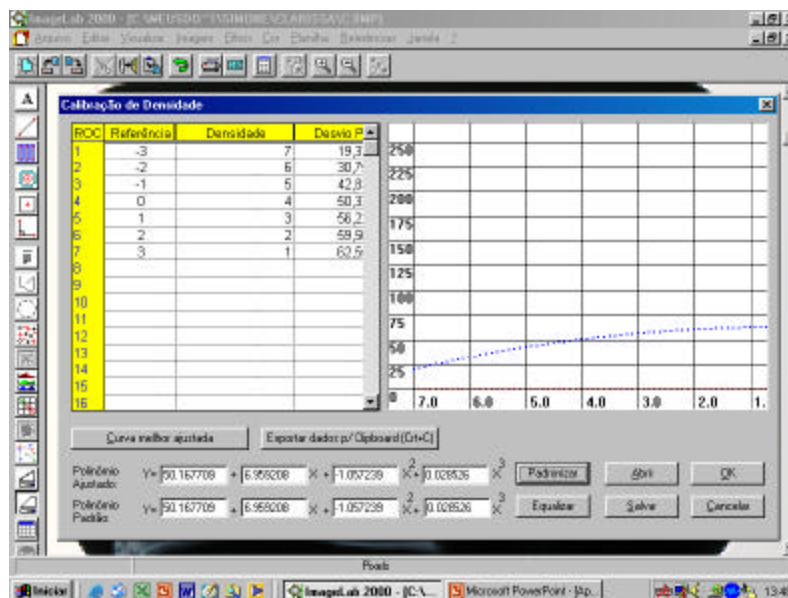


Figura 14– Imagem representativa da padronização da planilha e do gráfico dos valores da DO dos degraus da imagem padrão.

4.5.2.2. Equalização dos Tons de Cinza

Através de um artifício do programa ImageLab pode-se equalizar as imagens a fim de minimizar possíveis diferenças nos tons de cinza, decorrentes das variações que as imagens radiográficas podem sofrer em função da técnica radiográfica, da revelação, do material de confecção do filme e do processo de digitalização. Para isso selecionamos novamente os setes degraus da escala de referência de alumínio, radiografada simultaneamente ao osso, cuja densidade mineral óssea queremos obter (figura 15).

Obteve-se assim uma nova planilha e um gráfico contendo a curva densitométrica da imagem 1, em azul, e a curva densitométrica da nova imagem (imagem 2), representada em vermelho (figura 16).

Como se trata da mesma escala de alumínio, radiografada com a mesma técnica, apenas em filmes radiográficos diferentes, pode-se “equalizar” as imagens, ordenando ao programa considerar as duas imagens como sendo iguais. Desta forma, o programa capta por subtração de imagem, as diferenças entre as duas imagens e as aproxima de uma imagem padrão.

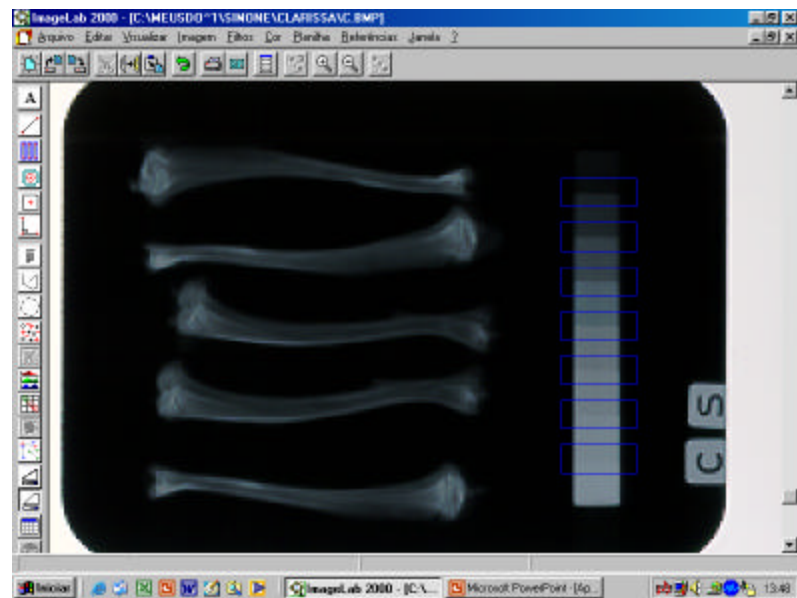


Figura 15 – Seleção dos sete degraus da escala de referência da imagem a ser calculada (imagem 2).

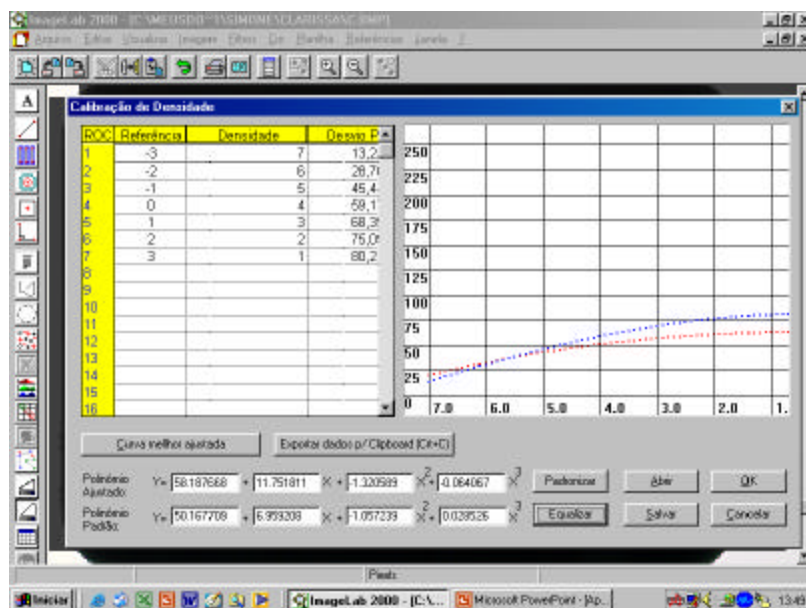


Figura 16 – Equalização da planilha e do gráfico dos valores da equalização das curvas representativas da escala de alumínio em azul referente à imagem 1 e curva em vermelho à imagem 2.

4.5.2.3. Demarcação das Regiões Ósseas e Cálculo da Densidade Óptica

Com o auxílio do programa ImageLab foram demarcadas as regiões tibiais das amostras pertencentes a cada grupo em estudo (figura 17). No momento de selecionar a região a ser estudada, foram analisadas três partes do osso, buscando incluir uma maior extensão óssea com a finalidade de calcularmos uma possível área de aumento da densidade mineral óssea, ao compararmos os grupos. Após as demarcações realizou-se através do ImageLab, a seleção da área para o cálculo da DO (figura 18).

Selecionadas as regiões, o programa realizou o cálculo das regiões, mostrando os valores de densidade óptica para cada uma das regiões selecionadas (figura 19). O procedimento de demarcação e de leitura das DO das regiões foi repetido por mais duas vezes, a fim de se calcular uma média das três leituras obtidas.

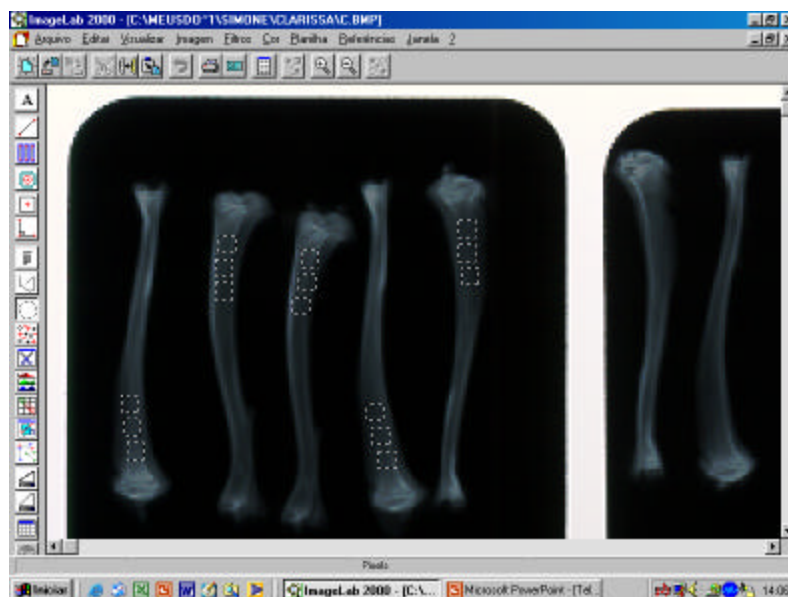


Figura 17 – Visualização e demarcação das áreas a serem calculadas.

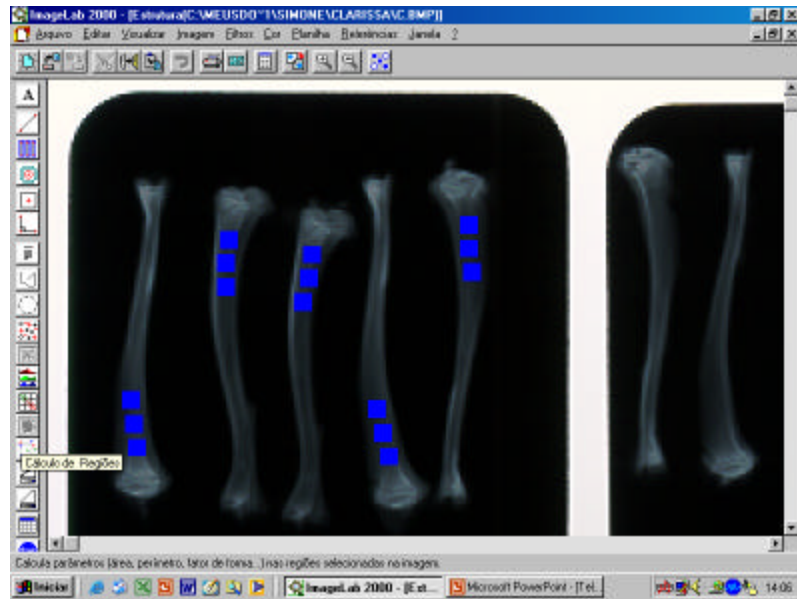


Figura 18 – Seleção das áreas analisadas.

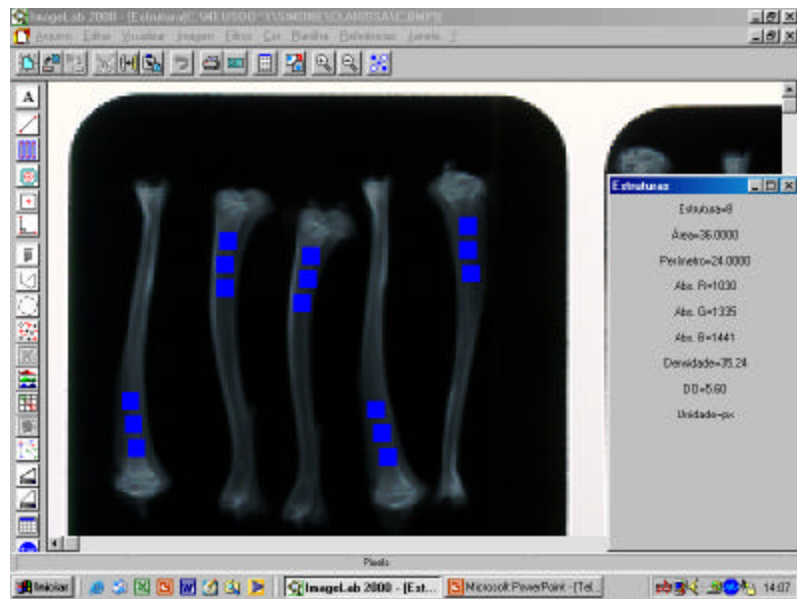


Figura 19 – Cálculo da DO das regiões demarcadas das tíbias

4.5.2.4. Cálculo da Densidade Mineral Óssea em mmAl

Obtida a média das três leituras de cada região selecionada, cada um dos valores médios foi multiplicado por 0,5mm, para se obter o valor da densidade mineral óssea (DMO) em mmAl, uma vez que cada degrau possui 0,5 mmAl de altura. Assim, uma DO de valor 2 calculada pelo programa computacional, significa que o tom de cinza corresponde ao segundo degrau da escala de referência, ou seja uma DO=4 é o mesmo que uma DMO=2mmAl.

4.6. Análise Estatística

Os resultados obtidos após avaliação da densidade óptica radiográfica das regiões ósseas foram submetidos ao teste estatístico de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com grau de significância de 5% ($p < 0,05$).

5. Resultados

5.1. Análise da Densidade Mineral Óptica

A análise estatística dos valores densitométricos obtidos de todos os grupos em estudo permitiu avaliar a existência ou não, de alterações na radiopacidade radiografias obtidas dos espécimes.

A partir dos valores de DMO, pudemos avaliar alterações ao compararmos os quatro grupos em estudo: grupo controle (GC), grupo exercício (GE), grupo suplementado (GS) e grupo exercício suplementado (GES), entre si. Os valores de todas as DMOs estão representados no Anexo 1 (tabelas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10) e suas médias finais, que foram utilizadas para a análise estatística, estão representadas pelo Anexo 2 (tabela 11).

Foi aplicado o método de análise de variância (ANOVA) nos valores em estudo associado ao Teste de Tukey para averiguação de semelhanças e diferenças entre os grupos, com um nível de significância e margem de erro de 5%.

A partir dos valores obtidos através dessa análise obtivemos os resultados da média e desvio padrão para os grupos em questão, demonstrados no Anexo 3 (tabela 12). Como a análise acusou diferenças entre alguns grupos, realizamos o teste de Tukey para possíveis comparações múltiplas no Anexo 3 (tabela 13).

De acordo com as análises densitométricas obtivemos os gráficos que correlacionam a DMO com os grupos em estudo.

A análise do histograma expresso no gráfico 1 permitiu observar que, em números absolutos, os valores de DMO do grupo GS foram superiores aos do grupo GC, embora não tenham sido estatisticamente significantes.

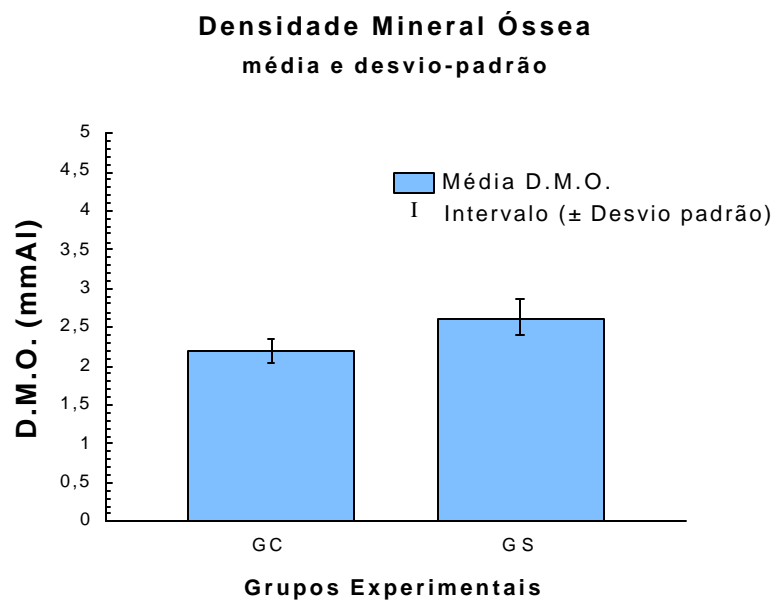


Gráfico 1 – Histograma dos valores de DMO dos grupos GC e GS.

Por sua vez, ao analisarmos o gráfico 2, pode-se observar que houve um aumento em números absolutos da DMO, ao compararmos o grupo GC e o grupo GE. Esses valores foram significantes quando analisados estatisticamente.

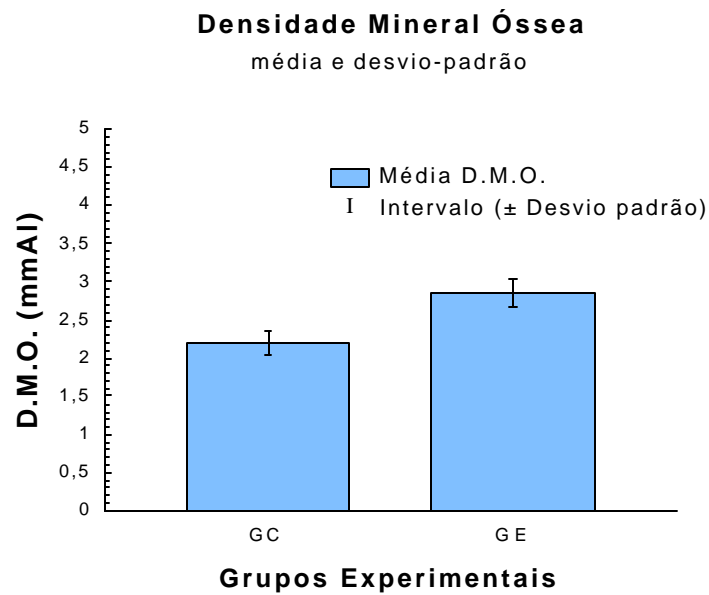


Gráfico 2 – Histograma dos valores de DMO referentes aos grupos GC e GE.

Por sua vez, o histograma expresso no gráfico 3, refere-se aos dados da DMO quando comparamos o grupo GC com o grupo GES, podendo-se observar que, o último apresentou um ganho numérico estatisticamente significativo em relação aos animais do grupo controle.

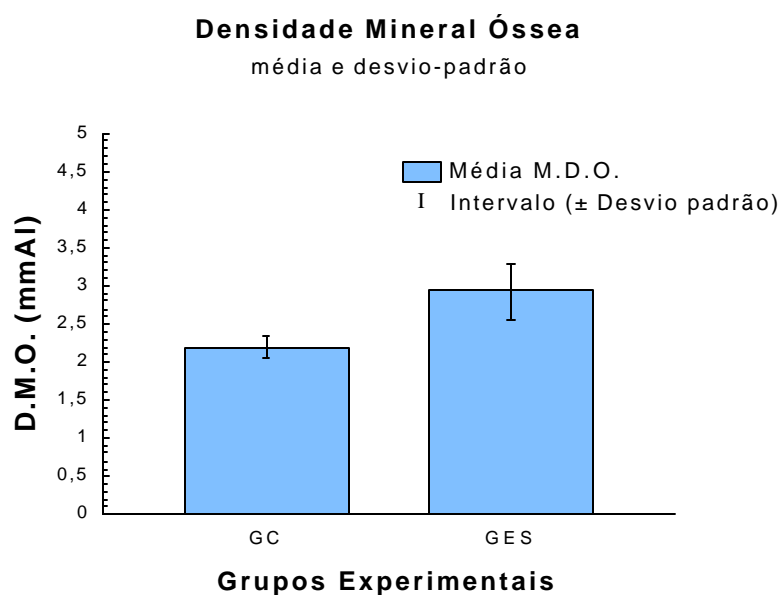


Gráfico 3 - Histograma dos valores de DMO em relação aos grupos GC e GES.

A análise comparativa dos valores obtidos de DMO em todos os grupos estudados pode ser visualizada através do gráfico 4. Observa-se que o grupo controle, apresentou os menores valores de DMO, enquanto que os animais que receberam somente a suplementação com cálcio apresentaram ganho ósseo, em valores absolutos, superior somente em relação aos valores obtidos pelo grupo GC, diferença esta, não estatisticamente significativa. Com relação ao grupo em que foi realizada a prática de atividade física regular (GE), notou-se que o exercício físico propiciou um ganho ósseo superior aos valores encontrados nos grupos GC e GS. Deve-se ressaltar que no grupo GE, os valores obtidos apresentaram-se estatisticamente significante somente ao compararmos seus valores aos do grupo GC. A associação da suplementação com cálcio e a prática de atividade física (GES), determinou valores de DMO superiores aos demais grupos, expresso pelos maiores valores de ganho ósseo de todos os grupos em estudo. Porém, devemos também ressaltar que neste grupo, os resultados não foram estatisticamente significantes quando comparamos seus resultados com os grupos GS e GE.

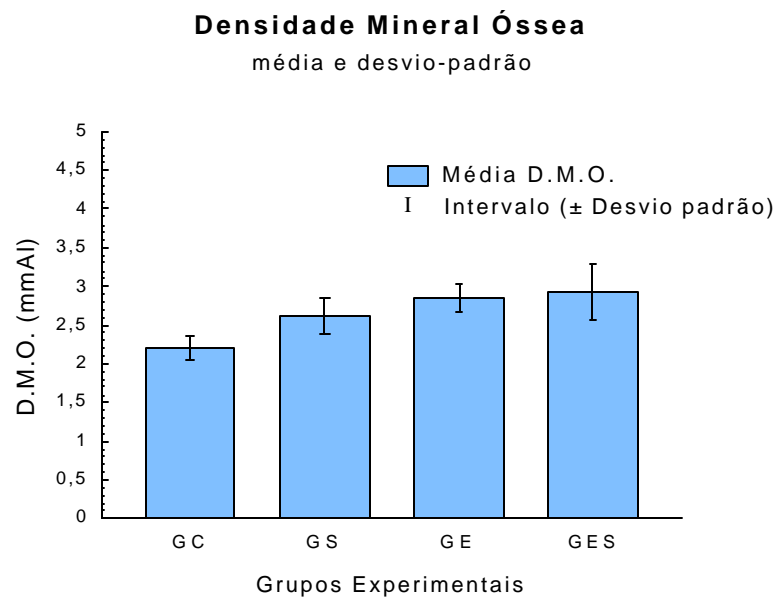


Gráfico 4 – Histograma dos valores de DMO referente aos 4 grupos experimentais.

6. Discussão

Os avanços tecnológicos e científicos obtidos no último século determinaram um aumento da expectativa de vida, alterando os hábitos e costumes das populações, tornando-as mais sedentárias. Nas últimas décadas tem-se reconhecido a osteoporose como um grande problema de saúde pública relacionada não somente ao aumento da expectativa de vida da população, como também a uma alimentação incorreta e ao sedentarismo. A osteoporose constitui um importante problema mundial, pois, apesar de avanços no conhecimento de sua epidemiologia, patogenia, manifestações clínicas, diagnósticos e tratamento, grande número de novos casos são diagnosticados determinando um aumento progressivo na incidência desta patologia (SHARP; DHOME, 2001).

O número de pessoas afetadas é grande e o tratamento a que são submetidas é longo e oneroso, levando a um custo social e financeiro elevado, principalmente, devido às fraturas osteoporóticas (DELMANS; FRASER, 1999). Fraturas estas que fazem com que os pacientes não tenham qualidade de vida, dependendo de outras pessoas para executar as atividades da vida diária.

Avaliar a composição e densidade do tecido ósseo, em pacientes com osteoporose, através de métodos não invasivos tem sido alvo de pesquisas com resultados conflitantes. Além disso, o conhecimento de possíveis implicações clínicas que estão associadas às variações aferidas na densitometria óssea, principalmente em pacientes osteoporóticos, tem incentivado a realização de estudos nessa área (BODNER et al., 1993).

A análise dos valores de DMO através da densitometria óptica permitiu detectar valores crescentes de massa óssea. Portanto, a metodologia escolhida para aferição do ganho ósseo utilizada neste estudo apresentou-se como um método de estudo seguro, de fácil aplicabilidade, apresentando resultados confiáveis e de fácil execução, sendo capaz de detectar maior formação de tecido ósseo através do aumento da radiopacidade da imagem radiográfica, então traduzida por valores superiores de DMO. Os resultados também estão de acordo com os obtidos por diversos autores (RIBEIRO, 2004; NASCIMENTO, 2003; KRIBBS, 1990; BODNER et al., 1993; CHEN et al., 1997) que indicam a validade da utilização de métodos radiográficos para a avaliação de

neoformação óssea. Arisawa (2000), observou resultados estatisticamente significantes, evidenciados através da análise dos valores obtidos das leituras densitométricas de radiografias das mandíbulas de animais controle e ovariectomizados, indicando que é possível a comparação do ganho ósseo entre as duas condições clínicas, mesmo em se tratando de animais de pequeno porte.

Sabe-se que a osteoporose causa em torno de 700.000 fraturas por ano nas mulheres americanas, das quais 150.000 são fraturas de quadril. As pesquisas indicam que o exercício e uma dieta enriquecida com cálcio pode ser benéfico na manutenção e/ou incremento da massa óssea. Mas o mecanismo específico da atividade física na prevenção e/ou tratamento da osteoporose não tem sido definido com exatidão, bem como a suplementação com cálcio (WHITE; ROSENBERG, 1985).

Será, realmente, que ao realizarmos a prática de atividade física e/ou a suplementação com cálcio, estaríamos contribuindo para a manutenção ou para o aumento da DMO? Qual seria a fase da vida mais adequada para a aplicação desses métodos, tendo como objetivo a prevenção da osteoporose?

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, ao realizarmos somente a suplementação com cálcio, a partir do momento em que as ratas eram recém-desmamadas, houve um aumento em valores absolutos da densidade mineral óssea, quando comparamos os dados obtidos do grupo controle com o grupo GS, valores esses que, quando analisados estatisticamente, não apresentaram alterações significativas. Isto sugere que, a utilização isolada de cálcio, não pode ser indicada como forma de prevenção primária da osteoporose, por não ter possibilitado valores relevantes de ganho de massa óssea nessa importante fase de desenvolvimento do tecido ósseo. O resultado obtido em relação ao cálcio, é concordante com o estudo realizado por Welton et al. (1994), mostrando ausência da associação entre a ingestão de cálcio e o aumento da densidade mineral óssea (DMO).

A ingestão de cálcio como suplemento vitamínico também não foi considerada um fator significativo determinante do pico de massa óssea após estudo realizado por Rubin et al. (1999), do qual participaram 677 mulheres caucasianas entre 18 e 35 anos, no qual os autores avaliaram fatores relacionados ao estilo de vida, história menstrual, condições médicas e história familiar de osteoporose.

Outro questionamento que podemos fazer é se a prática regular de atividade física, em faixas etária precoces, permitiria um ganho real na DMO? Neste experimento, observou-se que quando os animais foram submetidos a exercício físico regular, durante a fase crítica para o alcance do pico de massa óssea, houve sim um aumento da densidade mineral óssea, quando os valores obtidos com o grupo GE foram comparados aos do grupo controle. Este resultado foi expressivo tanto em valores absolutos quanto estatísticos, sugerindo que a prática de exercício físico, durante a infância e adolescência, pode ser indicada como forma de prevenção primária no combate à osteoporose, por permitir um relevante ganho na densidade mineral óssea.

Os resultados obtidos, relacionados ao exercício físico são concordantes com os resultados obtidos por Nieman (1999), onde o autor mostra que as mulheres que praticaram esporte desde a infância possuíam maior DMO e estariam menos propensas à osteoporose, já que teriam adquirido uma maior deposição óssea na fase inicial de suas vidas. Conforme o autor, músculos mais fortes e densos em adolescentes, são decorrentes da prática regular de exercícios durante a infância, demonstrando que o desenvolvimento de ossos fortes numa fase precoce da vida pode ser traduzido por uma menor incidência de osteoporose na velhice.

Também em um estudo realizado com o objetivo de medir o efeito da atividade física no conteúdo mineral ósseo, Margulies et al. (1986), observaram a ação positiva da atividade física intensa no conteúdo mineral de membros inferiores de adultos jovens.

Mas, será que a associação da prática de atividade física e a suplementação com cálcio permitiriam obter um melhor resultado em relação a DMO? Neste estudo, pôde-se observar que, ao associarmos os dois métodos que são sugeridos como forma de prevenção primária no combate à osteoporose, também se observou aumento expressivo nos valores de DMO ao compararmos os dados referentes ao grupo controle com aqueles relativos ao grupo GES, sendo este resultado estatisticamente significativo.

Assim, de acordo com estes resultados, pôde-se verificar que, ao compararmos o grupo controle aos demais grupos, houve um aumento da densidade mineral óssea em valores absolutos, em nível crescente para os grupos GC; GS; GE; GES, respectivamente. Isto sugere que a prática de exercício físico, associada a uma suplementação com cálcio, apresenta-se como o método mais efetivo na prevenção da

osteoporose, sendo que o período adequado para sua aplicação é a partir de infância e durante a adolescência, conforme observado neste estudo.

Assim, é importante que se concentrem esforços para que se obtenha uma densidade óssea expressiva que permitirá minimizar a perda de massa óssea que ocorrerá com o envelhecimento. É preciso, não somente, aumentar a consciência da população e profissionais de saúde sobre a osteoporose, como também disponibilizar métodos preventivos para que crianças e adolescentes, obtenham uma qualidade de tecido ósseo que proporcione assim ossos mais fortes para o futuro (DELMANS; FRASER, 1998).

Melhorar a saúde do tecido ósseo é uma necessidade para a saúde plena em todas as idades, pois a queda da incidência de osteoporose irá proporcionar uma diminuição nas conseqüências negativas, permitindo inclusive uma diminuição nos custos, associados ao seu tratamento. O exercício físico, pelos seus múltiplos benefícios, deveria ser prática comum e regular em todas as faixas etária e deveria ser estimulado como hábito, iniciado na infância, pois os seus efeitos para a saúde poderiam ser melhor observados. Podemos dizer assim, que o método mais eficaz no combate à osteoporose, se levarmos em conta o custo-benefício, é ainda a prevenção (PLAPER, 1997).

7. Conclusão

Os resultados obtidos nas condições experimentais desenvolvidas neste estudo sugeriram que:

- O grupo controle apresentou os menores valores de DMO.
- A suplementação com cálcio não apresentou ganho ósseo significativo.
- A prática de atividade física regular propiciou um ganho ósseo superior aos valores encontrados nos grupos GC e GS.
- A suplementação com cálcio associada à prática de atividade física, apresentou os melhores resultados, com DMO superior aos demais grupos.

8. Referências Bibliográficas

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. ACSM position stand on osteoporosis and exercise (review). **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 27 n. 4, p. 1-7, 1995.

ARISAWA, E. A. L. **Influência da calcitonina na regeneração óssea em mandíbulas de ratas ovariectomizadas.** São José dos Campos, 2000. 105 f. Tese (doutorado em Biopatologia Bucal), Universidade Estadual Paulista “Júlio de mesquita Filho”.

BIAGINI, A. P. Fisioterapia, Nutrição e Osteoporose. **Rev. Fac. Claretianas**, n. 9, p.111-22, dez.,2000.

BODNER, L. et al. Long-terms effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. **Dentomaxillofac. Radiol.** v. 22, n. 4, p. 195-8, nov. 1993.

BROWN, W. T. Human genetic models for aging research. **New York, Raven Press.** p. 163-83, 1988.

CARVALHO, A. et al. Fator de correção em Densitometria Radiográfica. **Rev. Fac. Farm. Odonto. Araraquara.** v. 10, n. 1, p. 115-24, 1976.

CHEN, S. K.; HOLLENDER, L.; OMNELL, K. A. Detection of small differences in mass using a direct digital dental Xray system. **Dentomaxillofac. Radiol.** v. 26, n.1, p. 63-6, jan. 1997.

CHILVARQUER, I. Radiologia e seus avanços contemporâneos. **Rev. APCD** v. 47, n. 2, p. 1001-4, 2000.

COOPER, C. et al. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. Osteoporosis? **J. Bone Miner. Res.** v. 7, p. 465-72, 1992.

DALSKY, G. P. The role of exercise in the prevention of osteoporosis. **Comprehensive therapy**. v. 15, n. 9, p. 30-7, 1989.

DELMANS, P.B.; FRASER, M. Strong bones in later life: luxury or necessity?. **Bulletion of the World Health Organization**. v. 77, n. 5, p. 416-21, 1999.

DEQUEKER, J. et al. Osteoporosis and osteoarthritis. **J.A.M.A.** v. 249, p. 1448-51, 1983.

DISHMAN, R. K. et al. Open-field behavior is not related to treadmill performance in exercising rats. **Physiol. Beba**. v. 43, p. 541-46, 1988.

DOUGLAS, C. R. **Tratado de Fisiologia. Aplicação à ciencia da saúde**. 4 ed. São Paulo: Robe Editorial, 1999, 1338p.

FENYO-PEREIRA, M.; COSTA, C.; PANELIA, J. Avaliação fotodensitométrica dos filmes radiográficos periapicais Ektaspeed e Ektaspeed Plus e sua aplicação diagnóstica. **Rev. Inst. Ciênc. Saúde**. v. 17, n. 2, p. 103- 9, jul/dez. 1999.

GARCIA, R. S.; COSTA, N. P.; SOUZA, A. C. A. Densidade óssea: estudo da área entre incisivos laterais e caninos na maxila em humanos. **Rev. Odonto Ciência – Fac Odonto/ PUCRS**. v. 11, n. 21, p. 7-23, 1996.

GIRASOLE, G. et al. 17β - estradiol inhibits interleukin- 6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblastic in-vitro: potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. **J. Clin. Invest.** v. 89, p. 883, 1992.

GOING, S. et al. The effects of weight training on regional bone mineral density in premenopausal females. **Med. Sci. Sports Exercs**. v. 23, n. 4, p. 115, 1991.

HAITER, C. et al. Avaliação do tempo de secagem e análise densitométrica de dois tipos de filmes radiográficos submetidos a lavagem em álcool. **Rev. Fac. Odonto Passo Fundo**. v. 6, n. 1, p. 39-43, jan/jun. 2001.

HAYTEK, J. E. **Avaliação da densidade óptica perimplantar cervical em controle longitudinal**. 2002. 179f. Dissertação (Mestrado em Radiologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

HEANEY, R. P.; RECKER, R. R. Effects of nitrogen, phosphorus, and caffeine on calcium balance in women. **J. Lab. Clin. Med.** v. 99, p. 46-55, 1982.

IQBAL, M.M. Osteoporosis: epidemiology, diagnosis, and treatment. **South. Med. J.** v. 93, n. 1, p. 2-18, 2000.

JOHNELL, O. et al. Lifestyle and bone mineral mass in perimenopausal women. **Calcif Tissue Intr.** v. 36, p. 354-56, 1984.

JOHNSTON, C. C. et al.. Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. **N. Engl J. Med.** v. 327, p. 82-87, 1992.

JÚNIOR, A.F. O tratamento da osteoporose no paciente idoso deve ser o mesmo que o da pós-menopausa? **Rev. Brasileira de Reumatologia**. v. 37, n. 4, p. 210-16, 1997.

KOLBECK, S. et al. Digital radiography. A predictor of regenerate bone sitfitness in distraction osteogenesis. **Clin. Orthop.** v. 366, p. 221-8, sept. 1999.

KOTTKE, F.J; LEHAMANN, J.F. **Tratado de Medicina Física e Reabilitação de Krusen**. v. 2. 4ª , São Paulo, Manole, 1994.

KRIBBS, P. J. Comparision of mandibular bone in normal and osteoporotic women. **J. Prosthet. Dent.** v. 63, n. 2, p. 218-22, 1990.

KUCEROVÁ, H. et al. Low level laser therapy after molar extraction. **J. Clin. Laser Méd. Sug.** v. 18, n. 6, p. 309-15, 2000.

LANDIM, K. T.; JUNQUEIRA, J. C.; ROCHA, R. F. Influência da sinvastatina na reparação de mandíbulas de ratas. **PGR – Pós- Grd. Rev. Fac. Odont. São José dos Campos.** v. 5, n. 1, p. 78-84, jan/abril. 2002.

LINDSAY, R. et al. Spinal bone mineral density in the United States and Scotland. **J. Bone Min Res.** Suppl. 1, 1986.

LOUZADA et al. Metodologia para avaliação de densidade em imagem radiográfica. **RBE – Caderno de Engenharia Biomédica.** v. 14, n. 2, p. 37-47, 1998.

MAGALHÃES, L. A. G.; AZEVEDO, A. C. P.; CARVALHO, A. C. P. A. Importância do controle de qualidade de processadoras automáticas. **Radiol. Bras.** v. 35, n. 6, p. 40-7. 2002.

MAGULIES, J. Y. et al. Effect of intense physical activity on the bone-mineral content in the lower limbs of young adults. **J. of Bone and Joint Surg.** v. 68, n.7, p. 1090-93, 1986.

MALTKOVIC, V. et al. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. **J. Clin. Invest.** v. 93, p. 799-808, 1994.

MATSUDO, S.M.M.; MATSUDO, V.K.R. Osteoporose e atividade física. **J. Brasileiro de Ciência e Movimento.** v. 5, n.3, p. 33-60, 1991.

MURAMOTO, C. **Estabelecimento de valores de densidade mineral óssea (DMO) das regiões metafisárias e diafisárias do rádio em cães da raça Poodle por meio da Densitometria Óptica Radiográfica.** 2003. 125 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

MURRAY, T. M. Calcium nutrition and osteoporosis. **Can. Med Assoc. J.** v. 155, n.7, p. 935-9, 1996.

NASCIMENTO, S. B. **Estudo densitométrico da ação da calcitonina e da laserterapia no reparo de defectos ósseos cirúrgicos em ratos castrados.** 2003. 94 f. Dissertação (Mestrado Engenharia Biomédica). Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP. São José dos Campos, SP.

N.I.H. CONSENSUS CONFERENCE DEVELOPMENT ON OPTIMAL CALCIUM INTAKE. Optimal calcium intake. **Jama.** v. 272, n.24, p. 1942-8, 1994.

NIEMAN, D. C. Exercício e saúde. SP. Manole, 1999.

PERPIGNANADO, G. et al. **Attività fisica ed osteoporosis.** Clinical Therapeutics, v. 142, n. 3, p.201-6, 1996.

PISTÓIA, G. D.; MONTEBELO FILHO, A. Avaliação densitométrica e subjetiva de efeito da degradação de diferentes soluções de processamento sobre filmes de sensibilidade dos grupos “D” e “E”, utilizando caixas de processamento. **Rev. Odonto Ciéncia – Fac Odonto/PUCRS.** v. 17, n. 36, p. 169-82, abr/jun, 2002.

PLAPER,P.G. Osteoporose e Exercícios. **Rev. do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo.** v. 52, n. 3, p. 163-70, 1997.

PUPPIN, A. A. C. et al. Análise da densidade óssea pela leitura óptica na região de molares em mandíbulas secas. **Ver. Odonto Ciéncia,** v. 1, n. 25, p. 151-64, 1998.

RAY, N.; CHAN, J. K.; THAMER, M. Medical expenditures for the treatment os osteoporotic fractures in the United states in 1995. **J. Bone Miner. Res.** v. 12, p. 24-35, 1997.

RIBEIRO, T. P. **Estudo comparativo e associativo da ação do laser de baixa potência (GaAIAs) e da calcitonina na reparação de defeitos ósseos em ratos.** 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado Engenharia Biomédica). Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, São José dos Campos, SP.

RIGGS, B.L.; MELTON, L.F. Involutional osteoporosis. **N. Engl. J. Med.** 314: 1676-77, 1986.

RUBIN, L. A. et al. Determinants of peak bone mass: clinical and genetic analysis in a young female Canadian cohort. **J. Bone Miner Res.** v. 14, p. 633-43, 1999.

RUSSO, L. A. Osteoporose Pós- Menopausa: Opções Terapêuticas. **Arq Brás Endocrinol Metab.** v. 45, n. 4, p. 35-9, 2001.

SALES, M. A. O. et al. Aparelho de raios X odontológico: avaliação densitométrica da radiação de fuga do receptor da imagem. **R.P.G.** v. 4, n. 1, p. 34-8, jan/fev/mar. 1997.

SALGADO, J. F. M. **Avaliação da velocidade do processo de regeneração óssea primária, conjugando a técnica de regeneração óssea guiada com membrana de colágeno aniônico e terapia com laser de baixa potência.** 2002. 93f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba.

SANDLER, R. B.; SLEMENDA, C. W.; LA PORTE, R. E. et al. Post-menopausal bone density and milk consumption in childhood and adolescence. **Am J. Clin. Nutr.** v. 42, p. 170-74, 1985.

SANTARÉM, J. M. **O exercício.** p.4-5, 1996.

SAUERBRONN, A. V. D. et al. Densitometria óssea em mulheres pós-menopausadas brasileiras. **Rev. Ginec. & Obst.** v. 13, n. 3, p. 140-5, 2002.

SCARPARO, E.; COSTA, N. P.; GARCIA, R. S. Apresentação de uma metodologia exploratória para análise de densidade óssea na mandíbula. **Rev. Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**. V. 10, n. 20, p. 29-44, 1995.

SHARP, M; DOHME. Consenso Mexicano de Osteoporosis. **La revista de Investigación Clínica**. v. 53, n. 5, p. 469-95, 2001.

SKARE, T.L.(1999). **Reumatologia - Princípios e Prática**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999.

SMITH, D. M. et al. Genetic factors in determining bone mass. **J. Clin. Invest.** v.52 p. 2800-8, 1973.

SOUTHARD, R. N. et al. Bone mass in healthy children: measurement with quantitative DXA. **Radiology**. v. 179, p. 735-38, 1991.

STERMAN, F. A. **Avaliação da densidade mineral óssea em eqüinos atletas destinados ao enduro Eqüestre pelo método de densitometria óptica radiográfica**. 2001, 47 f. Dissertação (Título de Professor Livre – Docente) – Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

STILLMAN, R. J. et al. Total body bone mineral determined by Dual-energy Xray and Single photon densitometry. **Med. Sci. Sports Exercise**. v. 23, n. 4, p. 114, 1991.

THOMAS, K. A. et al. Femoral neck and lumbar spine bone mineral densities in a normal population 3-20 years of age. **J. Pediatric Orthop**. v. 11, p. 48-58, 1990.

TYLAVSKY, F. A. et al. Familial resemblance of radial bone mass between premenopausal mothers and their college-age daughters. **Calcif Tissue Int**. v. 45, p. 265-72, 1989.

URBANETZ, A.A. et al. Suplementação de cálcio e Osteoporose. **Femina**. v. 24, n. 1. p. 19-28, 1994.

WELTON, D. C. et al. Weight-activity during youth is a more important factor for peak bone mass than calcium intake. **J. Bone Miner Res.** v. 9, p. 1089-95, 1994.

WHITE, M. K.; ROSENBERG, B. S. What the research says about exercise and osteoporosis. **Health Education**. v. 16, n. 1, p. 3-5, 1985.

WHAITES, E. **Princípios de Radiologia Odontológica**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2003, 444p.

WEINSTEIN, S.L.; BUCKWALTER, J.A. Ortopedia de Turek- Princípios e sua Aplicação. **5ed, São Paulo, Manole, 1994**

Anexo 1

Análise Densitométrica - Valores de todas as DMO obtidas

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
DMO 1	1,56	1,76	1,98	1,86	1,62
DMO 2	2,14	2,22	2,49	2,38	2,14
DMO 3	2,45	2,49	2,73	2,66	2,46

Tabela 3 – Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo controle

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
DMO 1	1,75	2,22	2,09	2,37	2,85
DMO 2	2,56	2,57	2,74	2,79	2,96
DMO 3	2,78	2,80	2,73	2,98	3,06

Tabela 4 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo suplementado com cálcio.

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
DMO 1	2,27	2,6	2,71	2,86	2,71
DMO 2	2,96	2,81	2,87	2,88	2,96
DMO 3	3,06	2,92	3,25	3,03	3,24

Tabela 5 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício.

	Rata 6	Rata 7	Rata 8	Rata 9	Rata 10
DMO 1	2,48	2,57	2,68	2,63	2,81
DMO 2	2,7	2,99	2,98	2,99	3,07
DMO 3	2,74	3,07	3,27	3,26	3,01

Tabela 6 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício.

	Rata 11	Rata 12	Rata 13	Rata 14	Rata 15
DMO 1	2,69	2,31	2,59	2,3	2,86
DMO 2	3,11	2,56	3,02	2,55	3,09
DMO 3	3,16	2,61	3,05	2,61	3,11

Tabela 7 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício.

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
DMO 1	2,34	3,48	3,46	1,87	2,51
DMO 2	2,8	3,48	3,36	2,51	2,92
DMO 3	2,97	3,3	3,17	2,61	3,01

Tabela 8 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício suplementado.

	Rata 6	Rata 7	Rata 8	Rata 9	Rata 10
DMO 1	2,77	2,69	2,57	2,59	2,6
DMO 2	2,87	3,11	2,66	3,03	3,03
DMO 3	2,97	3,16	2,82	3,04	3,1

Tabela 9 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício suplementado.

	Rata 11	Rata 12	Rata 13	Rata 14	Rata 15
DMO 1	2,35	2,71	2,61	2,87	2,71
DMO 2	2,69	3,03	3,03	2,9	3,07
DMO 3	2,74	3,11	3,1	2,95	3,09

Tabela 10 - Valores experimentais da DMO em mm/al de todas as amostras do grupo exercício suplementado.

Anexo 2

Médias das DMO utilizadas para análise estatística

Rata	GC	GS	GE	GES
1	2,05	2,36	2,76	2,70
2	2,16	2,53	2,78	3,42
3	2,40	2,52	2,94	3,36
4	2,30	2,71	2,92	2,33
5	2,07	2,96	2,97	2,81
6			2,64	2,87
7			2,87	2,99
8			2,98	2,68
9			2,96	2,88
10			2,99	2,91
11			2,99	2,59
12			2,49	2,95
13			2,89	2,91
14			2,48	2,90
15			3,02	2,95

Tabela 11 - Média da DMO em mm/Al dos grupos experimentais utilizadas para a análise estatística.

Anexo 3

Análise Estatística

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Coefficiente de Variação (%)</i>
GC	5	10,98	2,20	0,023	0,151	6,9
GS	5	13,08	2,62	0,052	0,229	8,7
GE	15	42,68	2,85	0,032	0,179	6,3
GES	15	43,88	2,93	0,130	0,361	12,3
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	2,212	3	0,737	10,32	4,8*10 ⁻⁵	2,87
Dentro dos grupos	2,573	36	0,071			
Total	4,785	39				

* Como o valor de F encontrado é maior que o F crítico, implica que existe diferença significativa a um nível de 5%, entre os grupos.

Tabela 12- Análise de Variância ANOVA. Média e desvio padrão em mm/Al dos quatro grupos estudados.

GC	GS	GE	GES
Controle	Suplementado	Exercício	Exerc/Suplem
2,20 A	2,62 AB	2,85 B	2,93 B

* Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes

Tabela 13- Média da densidade mineral óssea. Aplicação do Teste de Tukey (5%) comparando os métodos utilizados.

Anexo 4
Comitê de Ética