

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas

EFEITO DA SIMPATECTOMIA PROVOCADA PELA
GUANETIDINA SOBRE FÊMURES DE RATAS CASTRADAS

VALÉRIA GONÇALVES ALBIERI MATTOS

SÃO CARLOS
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas

EFEITO DA SIMPATECTOMIA PROVOCADA PELA
GUANETIDINA SOBRE FÊMURES DE RATAS CASTRADAS

VALÉRIA GONÇALVES ALBIERI MATTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Keico Okino Nonaka

SÃO CARLOS
2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M444es

Mattos, Valeria Gonçalves Albieri.

Efeito da simpatectomia provocada pela guanetidina sobre fêmures de ratas castradas / Valeria Gonçalves Albieri Mattos. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

77 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Medicina experimental - rata. 2. Fêmur. 3. Sistema nervoso autônomo. 4. Ovariectomia. 5. Osteoporose. I. Título.

CDD: 619.93 (20ª)

Orientadora
Profa. Dra. Keico Okino Nonaka

Ao meu esposo, Maurício, por ter sido meu alicerce emocional nesta trajetória.

A minha filha, Camila, pelo amor recebido através de seu olhar, incentivando minha inspiração.

Aos meus pais, Albieri e Cydha, pela segurança transmitida.

A minha irmã e esposo, Valesca e Alexandre, pela confiança e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, em especial:

À Profa. Dra. Keico Okino Nonaka, pela oportunidade em participar deste programa de Pós-graduação, e de conviver com sua competência e ética profissional no decorrer deste tempo;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, pela oportunidade de conquista deste título de Mestre;

Aos docentes e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas, pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho, especialmente Sr. Sérgio Dias;

À Profa. Dra. Heloísa Sobreiro Selistre de Araújo por ter disponibilizado seu laboratório (Laboratório de Farmacologia, Bioquímica e Biologia Molecular / Departamento de Ciências Fisiológicas – UFSCar) para a utilização do espectrofotômetro;

À Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes pela utilização do leitor de micro placas (ELISA) do Laboratório de Histologia e Microscopia / Departamento de Ciências Fisiológicas – UFSCar;

Aos professores Dra. Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte / Departamento de Educação Física e Motricidade Humana – UFSCar, Dra. Ana Lúcia Kalinin / Departamento de

Ciências Fisiológicas (Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa) – UFSCar e Dr. Luiz Antônio de Arruda Camargo / Departamento de Fisiologia – UNESP (Araraquara) pelas contribuições importantes no exame de qualificação;

Aos (ex e atuais) pós-graduandos do Laboratório de Neuroendocrinologia Adriana Adler Macagnan, Charles Chenwei Wang, Dernival Bertoncelo, Edvanina de Souza Costa Queiroz, Fernando Talhari, Fernando Vidal D'Ávila, Juciléia Barbosa Bezerra, Lidiângela Dias Vilar, Lucélia Maria Albertin, Luiz Carlos Paula Mello (in memorian), Patrícia Driusso pelo companheirismo indispensável ao cumprimento deste trabalho;

À Gabriela Schiffler, amiga e colega profissional, pelo apoio durante o tempo que estive afastada do consultório em prol do Mestrado;

Aos meus sogros, José Roberto Gomes de Mattos e Maria Angélica Loreti Mattos, pelo grande apoio.

“As palavras convencem, mas o exemplo, transforma”.
(Joana de Angelis)

RESUMO

Efeito da Simpatectomia Provocada pela Guanetidina sobre Fêmures de Ratas Castradas

A inervação simpática do osso influencia a atividade osteoblástica e providencia suporte para o papel do Sistema Nervoso Autônomo sobre a regulação da formação óssea. O tratamento com Guanetidina promove a desnervação do Sistema Nervoso Simpático, tanto em humanos quanto em animais. O objetivo do presente estudo foi investigar a atuação do Sistema Nervoso Simpático sobre fêmures de ratas adultas e castradas, por meio da análise de parâmetros biométricos, físicos, biomecânicos e concentração de cálcio no plasma e femur dos animais experimentais. Quarenta e uma ratas Wistar com 4 meses de idade foram divididas nos seguintes grupos experimentais: Basal (n=9), Intacto (n=8) – salina 0,1ml/Kg/PC, Castrado (n=7) - salina 0,1ml/Kg/PC, Castrado e Tratado por 6 semanas (n=9) – Guanetidina 37mg/Kg PC, Castrado e Tratado por 8 semanas (n=8) – Guanetidina 40mg/Kg PC. O tratamento foi realizado durante seis dias por semana, os animais foram mantidos sob um regime de luz (10 horas claro/ 14 horas escuro), com ração comercial e água “*ad libitum*”. Após 8 semanas, os animais foram sacrificados. A castração aumentou o ganho de Peso Corporal e induziu osteopenia. A não-atuação do sistema nervoso simpático periférico sobre o tecido ósseo, ocasionada pela simpatectomia induzida pela guanetidina, não promoveu proteção aos efeitos deletérios da castração, fato indicado pelos parâmetros de densidade óssea, densidade mineral, peso das cinzas, porcentagem de água, porcentagem de material mineral, rigidez e cálcio plasmático.

Palavras-chave: Sistema Nervoso Simpático – Simpatectomia – Guanetidina – Osso – Rato.

ABSTRACT

Effects of sympathectomy promoted by guanetidine on femurs of ovariectomized rats

The bone sympathetic innervation influences the osteoblastic activity and supports the participation of Autonomic Nervous System on the bone formation regulation. Treatment with guanetidine promotes denervation of the sympathetic system in humans as well as animals. This work aims at investigating participation of the sympathetic system on the femur biology of ovariectomized adult rats. For this purpose, physical and biomechanical parameters, in addition to plasma and femur calcium were analyzed. Forty one, 4-month aged female Wistar rats were divided into the following experimental groups: basal (n=9), intact (n=8) treated with 1ml saline/Kg BW, castrated and treated with 1ml saline/Kg BW (n=7), castrated and treated with 37 mg guanetidine/Kg BW during six weeks (n=9) and castrated and treated with 40 mg guanetidine/Kg BW during eight weeks (n=8). The treatment was performed during six days/week. The animals were housed under controlled temperature ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) and light (lights on between 8 a.m. and 6 p.m. daily) conditions. The rats had free access to food and tap water. After 8 weeks the animals were sacrificed. It was determined that ovariectomy induced higher BW gain and osteopenia. The denervation promoted by guanetidine did not protect the bone tissue from the deleterious effects on account of castration as demonstrated by the values of physical, biochemical and biomechanical parameters.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Foto da máquina de ensaio universal instron (modelo 4444) demonstrando um teste de flexão a três pontos em um fêmur de rata...	26
FIGURA 2.	Representação do gráfico força-deformação obtido durante o teste de flexão a três pontos do fêmur de rata. Estão representadas as definições das propriedades mecânicas analisadas neste estudo. Força máxima, deslocamento máximo, resiliência, tenacidade e rigidez.....	27
FIGURA 3.	Pesos corporais (iniciais e finais) e ganho de peso corporal das ratas dos diferentes grupos experimentais.....	32
FIGURA 4.	Comprimento do fêmur, diâmetros maior e menor da diáfise femural de ratas dos diferentes grupos experimentais.....	34
FIGURA 5.	Força máxima, deslocamento máximo, resiliência, tenacidade e rigidez do fêmur das ratas dos diferentes grupos experimentais.....	36
FIGURA 6.	Peso das cinzas, volume ósseo, densidade óssea, densidade mineral dos fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais.....	38
FIGURA 7.	Porcentagem de água, material mineral e material orgânico do fêmur de ratas dos diferentes grupos experimentais.....	40
FIGURA 8.	Cálcio plasmático das ratas dos diferentes grupos experimentais e conteúdo total de cálcio do fêmur dos animais experimentais.....	42

LISTA DE TABELA

TABELA 1.	Pesos corporais (iniciais e finais) e ganho de peso.....	31
TABELA 2.	Comprimento do fêmur, diâmetros maior e menor da diáfise femural.	33
TABELA 3.	Força máxima, deslocamento máximo, resiliência, tenacidade e rigidez do fêmur das ratas dos diferentes grupos experimentais.....	35
TABELA 4.	Peso das cinzas, volume ósseo, densidade óssea, densidade mineral dos fêmures de ratas ratas dos diferentes grupos experimentais.....	37
TABELA 5.	Porcentagem de água, material mineral e material orgânico do fêmur de ratas dos diferentes grupos experimentais.....	39
TABELA 6.	Cálcio plasmático das ratas dos diferentes grupos experimentais e conteúdo total de cálcio do fêmur dos animais experimentais.....	41
TABELA 1.	Pesos corporais (iniciais e finais) e ganho de peso.....	31
TABELA 2.	Comprimento do fêmur, diâmetros maior e menor da diáfise femural.	33
TABELA 3.	Força máxima, deslocamento máximo, resiliência, tenacidade e rigidez do fêmur das ratas dos diferentes grupos experimentais.....	35
TABELA 4.	Peso das cinzas, volume ósseo, densidade óssea, densidade mineral dos fêmures de ratas ratas dos diferentes grupos experimentais.....	37
TABELA 5.	Porcentagem de água, material mineral e material orgânico do fêmur de ratas dos diferentes grupos experimentais.....	39
TABELA 6.	Cálcio plasmático das ratas dos diferentes grupos experimentais e conteúdo total de cálcio do fêmur dos animais experimentais.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT – Associação brasileira de normas técnicas
B – Grupo basal
C – Grupo castrado
Ca⁺² – Cálcio
Comp. – Comprimento
 ρ - Densidade
 $\phi >$ - Diâmetro maior
 $\phi <$ - Diâmetro menor
DM – Densidade mineral
D Máx. – Densidade máxima
DO – Densidade óssea
EPM – Erro padrão da média
Fig. – Figura
F Máx. – Força máxima
HRT – Terapia hormonal substitutiva
I – Grupo Intacto
MM – Material mineral
MO – Material orgânico
n – Tamanho da amostra
NBR – Normas brasileiras
OMS – Organização mundial de saúde
8 sem - Grupo castrado e tratado com guanetidina durante 8 semanas
P – Peso do osso úmido
Pc – Peso das cinzas do osso
PC – Peso corporal
Pi – Peso do osso imerso em água
Pm – Peso das cinzas do osso
Ps – Peso do osso seco
% - Porcentagem
PTH – Hormônio da paratireóide
Res – Resiliência
Rig – Rigidez
Sc – Injeção via subcutânea
SD – Desvio padrão
6 sem - Grupo castrado e tratado com guanetidina durante 6 semanas
SNA – Sistema nervoso autônomo
SNC – Sistema nervoso central
Ten – Tenacidade
Trat / 6 sem – Grupo castrado e tratado com guanetidina durante 6 semanas
Trat / 8 sem – Grupo castrado e tratado com guanetidina durante 8 semanas
UFSCar – Universidade Federal de São Carlos
VO – Volume ósseo
vs - Versos

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Osteoporose.....	11
1.2	Sistema nervoso autônomo.....	16
1.3	Guanetidina.....	17
1.4	Modelo experimental de osteoporose humana.....	19
2.	OBJETIVOS.....	21
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1	Animais.....	22
3.2	Ovariectomia.....	22
3.3	Protocolo experimental.....	22
3.4	Parâmetros estudados.....	23
3.4.1	Propriedades biométricas.....	23
3.4.2	Propriedades biomecânicas do fêmur.....	24
3.4.3	Propriedades físicas dos fêmures direitos.....	28
3.4.4	Cálcio plasmático e do fêmur direito.....	29
3.5	Análise estatística.....	30
4.	RESULTADOS.....	31
4.1	Propriedades biométricas.....	31
4.2	Propriedades biomecânicas do fêmur.....	34
4.3	Propriedades físicas dos fêmures direitos.....	37
4.4	Cálcio plasmático e do fêmur direito.....	40
5.	DISCUSSÃO.....	43
5.1	Propriedades biométricas e físicas.....	43
5.2	Propriedades biomecânicas.....	46
5.3	Cálcio plasmático e femural.....	47
6.	CONCLUSÕES.....	50
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
	APÊNDICE.....	61

1 INTRODUÇÃO

A osteoporose é uma doença que provoca não só um desequilíbrio psicológico no indivíduo acometido, como também a sua exclusão em papéis sociais cotidianos (GOLD; DREZNER, 1995).

O risco de sofrer uma fratura osteoporótica ao longo da vida tem sido estimado em 50% (risco elevado), quando comparado a 9% de câncer no seio e 31% de doenças da artéria coronária. Seis meses após uma fratura de fêmur, idosos necessitam de assistência para suas atividades diárias. Existe uma preocupação muito grande com a perda da independência associada a fraturas (MINNICH, 1999).

Fraturas aumentam a morbidade e a mortalidade, impondo uma sobrecarga financeira à comunidade. Na Austrália, este aumento custa \$ 7 bilhões anualmente e isto aumentará em valores absolutos de acordo com o envelhecimento da população. No Brasil existe escassez de dados referentes a esses custos. O total de mortalidade é aproximadamente 20% nos primeiros doze meses após uma fratura de fêmur. Apesar da morbidade, mortalidade e do aumento de risco a futuras fraturas, mais pessoas com fraturas relacionadas à osteoporose não são tratadas por falta de condição financeira (SEEMAN; EISMAN, 2004).

Portanto, a osteoporose poderá tornar-se a doença do século, se medidas urgentes não forem tomadas para reverter este quadro (GOLD; DREZNER, 1995).

1.1 *Osteoporose*

O tecido ósseo é vital e dinâmico, mantendo-se em constante modificação. Este dinamismo está ligado a vias metabólicas associadas a homeostasia mineral. O metabolismo é regulado por células responsáveis pela formação e reabsorção óssea, osteoblastos e

osteoclastos, respectivamente. Isto ocorre em resposta a sinais químicos, mecânicos, elétricos e magnéticos. Como consequência da maturidade esquelética, o osso tende a remodelar-se durante toda a vida e adaptar suas propriedades materiais às sobrecargas mecânicas que recebe. Em condições normais, o equilíbrio entre a formação e a reabsorção se faz através de um processo chamado remodelagem óssea, que visa garantir a integridade das funções do esqueleto, mantendo a sua competência biomecânica, prevenindo-o contra o acúmulo de perigosas fadigas e protegendo os componentes teciduais para que estes estejam sempre disponíveis para manter o equilíbrio mineral. A remodelagem óssea ocorre durante toda a vida, sendo um fenômeno de superfície em locais como: periósteo, endósteo, canal haversiano e superfície trabecular. (EINHORN, 1996; PARFITT; CHIR, 1987; RODAN; RODAN, 1995).

A dureza e rigidez do osso tornam o esqueleto capaz de manter sua forma e contorno, protegendo os tecidos moles, providenciando um bom trabalho estrutural para a medula óssea e transmitindo vigor à contração muscular em qualquer parte do corpo (PARFIT; CHIR, 1987).

Durante a vida humana ocorre um declínio gradual da massa óssea que é considerado o principal constituinte da fragilidade óssea. Mudanças na matriz óssea também devem ser levadas em conta. Dois fatores determinam o nível de massa óssea em qualquer idade, são eles: o pico de massa óssea e a proporção e duração da perda óssea relacionada à idade. O pico de massa óssea é alcançado durante as primeiras três décadas de vida. Fatores genéticos e nutricionais, bem como o estresse mecânico sobre o esqueleto, também conferem um papel crucial para a determinação do pico de massa óssea. Em mulheres pode-se distinguir perda óssea relacionada puramente à idade, que tem como provável característica a diminuição da formação óssea, ou seja, o declínio da atividade osteoblástica; e a perda óssea pós-

menopausal, quando ocorre uma maior ativação da reabsorção óssea, aumentando a atuação osteoclástica (VÄÄNÄNEM, 1991).

No indivíduo hígido, até aproximadamente 30 anos de idade, a formação supera a reabsorção, quando a massa óssea máxima é atingida. Entre 35 e 40 anos, a reabsorção e a formação são equilibradas, sem ganho ou perda real. Após os 40 anos, a reabsorção supera a formação e tanto mulheres quanto homens perdem todos os anos cerca de 0,3 a 0,5% da massa óssea (BOGLIOLO, 1993).

Em mulheres após a menopausa, a perda óssea é acelerada. Esta proporção aumentada de perda é associada ao aumento do turnover ósseo. Existe uma gradual perda de osso cortical com a idade em ambos os sexos e ocorre uma aceleração deste processo em mulheres após a menopausa. Dois processos resultam na diminuição do osso cortical: afinamento cortical e aumento da porosidade cortical. No afinamento cortical o osteoclasto é o maior responsável, pois ocorre um balanço ósseo negativo devido ao aumento da reabsorção profunda sobre a superfície endosteal resultando em maiores espaços entre as trabéculas ósseas. Ocorre também um ligeiro balanço ósseo positivo sobre a superfície periostal, no entanto este não é suficiente para compensar o resultado anterior, tendo como consequência, um diâmetro endosteal aumentado quando comparado ao diâmetro periostal e à espessura externa do córtex ósseo. A porosidade aumenta em função de uma variedade de mudanças relacionadas à idade, incluindo a diminuição da proporção radial de fechamento dos ósteons, um aumento do diâmetro dos canais haversianos e um aumento do número de unidades de remodelagem que são eliminadas durante a fase reversa resultando no fechamento das cavidades de reabsorção. Estas mudanças podem ser classificadas como progressivas incompetências osteoblásticas relacionadas à idade, que reduz o recrutamento e a capacidade da matriz óssea. (DEMPSTER, 1995).

Crêterios foram propostos pela Organiza o Mundial de Saúde (OMS) em 1994, para quantificar a mensura o da massa óssea, através de valores absolutos como a densidade mineral óssea. Estes valores são importantes, pois são utilizados para monitorar as mudanças de densidade mineral óssea ao longo do tempo. Indivíduos normais possuem um desvio padrão (SD) maior que -1,0, tomando-se como referência a densidade mineral óssea média do pico de massa óssea em adultos jovens. Indivíduos osteop nicos têm SD entre -1,1 e -2,5. Indivíduos osteoporóticos possuem SD -2,5. Indivíduos com osteoporose estabelecida têm SD menor que -2,5 na presença de fraturas (COOPER; MELTON, 1996; NETO *et al.*, 2002; SEEMAN; EISMAN, 2004).

Fatores de risco, como alcoolismo, fumo exagerado, falta de exercício físico, magreza excessiva, uso demasiado de corticosteróide, fatores genéticos e também doenças como artrite reumatóide, espondilite anquilosante, anemia hemolítica, anorexia nervosa entre outras, podem acelerar a diminui o da massa óssea, tendo como resultado um desequilíbrio entre a reabsor o e a forma o (BOGLIOLO, 1993).

Segundo JOHNSTON & SLEMENDA (1995), a osteoporose pode ser definida como uma patologia caracterizada pela redu o da massa óssea e pela destrui o da microarquitetura do tecido ósseo, provocando um aumento da fragilidade óssea tendo como conseq ncia um aumento do risco de fraturas.

As principais manifesta es clínicas da osteoporose são as fraturas, sendo mais freqüentes em vértebras, fêmur e antebraço, podendo ocorrer como resultado de um trauma mínimo ou até espontaneamente (NETO *et al.*, 2002; V  NANEM, 1991).

KHOSLA, RIGGS e MELTON (1995) classificam a osteoporose com o termo “osteoporose involucional”, sendo esta caracterizada com o avanço da idade, admitindo manifesta es em ambos os sexos, sem identificar que a etiologia da doença tenha sido firmemente estabelecida. Esta classifica o pode ser dividida em *tipo I*, significando a perda

óssea trabecular após a menopausa e *tipo II*, representando perda óssea cortical e trabecular, em ambos os sexos, com o avanço da idade.

MARCUS (1996) classifica osteoporose como sendo *primária*, que ocorre em mulheres após a menopausa por deficiência do hormônio esteróide gonadal, ou perda óssea com o avanço da idade, tanto em homens quanto em mulheres, e *secundária*, quando condições específicas, como por exemplo, certas doenças, procedimentos cirúrgicos ou uso de algumas drogas podem ser responsáveis pela perda óssea.

Geralmente ocorrem severas limitações psico-sociais em pacientes com osteoporose associadas a dores crônicas e agudas que afetam suas atividades de rotina. Isto compromete o condicionamento físico destes indivíduos levando-os ao sedentarismo, diminuindo seu papel social tanto familiar quanto profissional, aumentando a necessidade de suporte físico de terceiros para sua própria condução. Como consequência psicológica temos a exacerbação dos sintomas depressivos (GOLD & DREZNER, 1995).

Para que o indivíduo acometido com a osteoporose tenha uma melhor qualidade de vida podem-se citar alguns tratamentos como a terapia hormonal substitutiva (HRT) para prevenir a osteopenia pós-menopausal. O uso de raloxifene ou de bifosfonatos é apropriado nos anos que sucedem a menopausa. O hormônio da paratireóide (PTH) pode exercer estimulação na formação ou reabsorção óssea, a depender da dose e da forma a ser utilizada. Suplementação de cálcio em indivíduos com idade acima de 65 anos e com deficiência de vitamina D também são aconselháveis (NETO *et al.*, 2002; SEEMAN; EISMAN, 2004).

1.2 *Sistema Nervoso Autônomo*

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA) exerce papel central na manutenção da homeostasia, envolvendo-se direta ou indiretamente em quase todos os processos fisiológicos e fisiopatológicos. Este sistema é dividido em sistema *simpático* e *parassimpático*, cujos principais neurotransmissores são a norepinefrina e acetilcolina, respectivamente. O sistema nervoso simpático prepara rapidamente o organismo para a defesa física (por luta ou fuga) frente a situações emergenciais, providencia suprimento sanguíneo com quantidades necessárias de oxigênio e nutrientes para músculos estriados e sistema nervoso central (SNC). Ele é ativado com a chegada de estímulo limiar provocando liberação, por exocitose, do neurotransmissor (norepinefrina) para a fenda sináptica. Em concentrações baixas, a norepinefrina estimula sua própria liberação, atuando em receptor β pós-sináptico. Em altas concentrações na fenda sináptica, o neurotransmissor freia sua liberação atuando em receptor α pré-sináptico, também chamado de auto-receptor (THADDEU; FUCHS, 1972).

Vários estudos demonstram que o periósteo e o tecido ósseo são altamente inervados por fibras sensoriais e simpáticas, mostrando que esta influência tem importância especial nos processos de formação e reabsorção óssea. Muitos neuropeptídeos tem sido vistos como moduladores locais do metabolismo ósseo, influenciando o fluxo sanguíneo medular e periosteal, angiogênese e nocicepção, em adição a efeitos diretos sobre osteoblastos e osteoclastos. Sabe-se também que atividades celulares ósseas são moduladas localmente por neurohormônios através de sinais via nervos simpáticos periféricos (MADSEN et al., 1996).

Durante o crescimento corporal, o sistema nervoso simpático participa da regulação fisiológica óssea. Sua atuação pode ser exercida centralmente através do hipotálamo com a liberação do neuropeptídeo Y (NPY) e periféricamente através de receptores de NPY tipo Y2,

cuja função é inibir a formação óssea. Receptores de vários neurotransmissores são expressos em células ósseas (CHERRUAU *et al.*, 1999, 2003; ADAM *et al.*, 1999).

1.3 Guanetidina

A Guanetidina é a [2-(octaidro-1-azocinil) etil] guanidina, composto sintético que provoca efeitos de depleção das catecolaminas, em parte semelhantes ao da reserpina (CORBERTT, 1977).

Guanetidina é uma neurotoxina conhecida por afetar somente neurônios noradrenérgicos periféricos (VILLANUEVA *et al.*, 2003).

Simpatectomia é definida como a seletiva destruição de neurônios simpáticos pós-ganglionares usando norepinefrina como seu neurotransmissor primário. Guanetidina tem vários efeitos sobre neurônios simpáticos periféricos, incluindo o bloqueio da transmissão neural, depleção do armazenamento neuronal de norepinefrina e bloqueio da recaptação de norepinefrina para o interior de neurônios, produzindo coletivamente uma simpatectomia funcional. Esta simpatectomia não é somente uma técnica simples, rápida e econômica comparada com outros tipos de simpatectomia, mas também é mais efetiva na abolição do conteúdo norepinefrinérgico do que desnervação cirúrgica ou a desnervação produzida pela anti-dopamina β -hidroxilase-saporina (DBH-SAP) (DEMAS;BARTNESS,2001).

Ptose palpebral é um sinal clínico que demonstra o sucesso da simpatectomia, ocorrendo tanto na simpatectomia cirúrgica como na química (CHERRUAU *et al.*,1999, 2003; ADAM *et al.*, 1999).

Mecanismo de Ação

Guanetidina é atraída unicamente por neurônio adrenérgico periférico, inibindo funções simpáticas. Ao ligar-se às vesículas de armazenamento no neurônio, alcança seu sítio de ação através do transporte ativo que é consumado pelo mecanismo de recaptção da norepinefrina. Inicialmente a guanetidina processa o bloqueio simpático pela inibição da liberação da norepinefrina que normalmente segue a estimulação do nervo. Depois, a guanetidina processa a depleção da norepinefrina neuronal. Em algumas ocasiões a guanetidina é evocada como “neurotransmissor falso”, estando presente em vesículas de armazenamento ocupando o lugar do transmissor normal, sendo ela, então, liberada pelo estímulo que normalmente liberaria a norepinefrina (GILMAN et al., 1990).

Absorção, Metabolismo e Excreção

A biodisponibilidade da guanetidina é baixa e variável, e apenas 3% da dose oral, quando administrada em humanos, alcança a circulação sistêmica. A droga é rapidamente transportada para seu sítio de ação intraneural, sendo eliminada com uma meia-vida de 5 (cinco) dias. Aproximadamente 50% da droga é metabolizada e o restante é excretado, possuindo a mesma composição na urina. Em função da meia-vida longa, a guanetidina pode ser administrada em doses diárias. Repetidas doses diárias poderão ficar acumuladas por no mínimo 2 (duas) semanas (GILMAN et al.,1990).

Toxicidade

Em humanos podem ocorrer fenômenos ortostáticos, como atordoamento e adinamia, que se agravam com exercícios, estes são os efeitos colaterais mais freqüentes. Fraqueza e dor muscular com tremores dos membros podem ocorrer. A retenção de fluidos pode ser contornada com diuréticos orais. A diarreia manifesta-se, sendo atribuída à predominância parassimpática. Perturbações sexuais, como a impotência e a incapacidade ejaculatória são observadas ocasionalmente. É rara a tolerância à guanetidina (CORBERTT, 1977). Em ratos, pode ocorrer diarreia intensa e ptose palpebral.

1.4 *Modelo experimental de osteoporose humana*

Um animal vivo com perda óssea induzida ou espontânea e que possui semelhança de um ou mais sintomas de seqüelas osteoporóticas encontradas em mulheres após a menopausa, pode ser definido como um modelo animal adequado (KALU, 1991).

Experimentos animais *in vivo* são muito usados em pesquisa de osteoporose. Critérios básicos para modelos animais de osteoporose serem usados, são: conhecimento sobre osteoporose humana, conhecimento fundamental do esqueleto humano e animal, experimentos que nos permitam utilizar o mesmo agente em espécies animais diferentes (KIMMEL, 1996).

O rato pode fornecer bons modelos para estudos sobre osteopenia relacionada à osteoporose humana e outros importantes problemas relacionados ao esqueleto humano, embora não haja animal que atenda todos os requisitos de um modelo ideal (FROST & JEE, 1992; KALU, 1991; THOMPSON *et al*, 1995).

Existe uma variedade de condições endócrinas deficientes ou em excesso que levam a uma reação osteopênica, incluindo ovariectomia, orquiectomia, hipofisectomia,

hiperparatiroidismo, hipertiroidismo, hiperprolactinemia, diabete induzido, falência renal induzida, aumento de glicocorticóides e adrenalectomia. A ovariectomia é o modelo mais popular para se estudar os eventos associados à osteopenia pós-menopausal. Após a ovariectomia, ocorre nas ratas um crescimento endocondral, aposição periostal e turnover ósseo trabecular com reabsorção excedendo a formação. A ovariectomia tem sido utilizada para induzir osteopenia e aumentar o turnover ósseo em ratas (WRONSKI *et al.*, 1989). Ratas ovariectomizadas apresentam deficiência de hormônios sexuais acelerando a perda óssea, como ocorre em mulheres após a menopausa (KALU, 1991; MILLER; BOWMAN ; JEE, 1995; WRONSKI *et al.*, 1989).

2 OBJETIVOS

Geral

Verificar a influência da desnervação simpática provocada pela guanetidina sobre as características ósseas de fêmures de ratas ovariectomizadas, utilizadas como modelo de osteoporose experimental, observando a correlação entre os parâmetros biomecânicos e as propriedades físicas e químicas dos ossos.

Específicos

Observar o crescimento ponderal das ratas dos diferentes grupos experimentais;

Verificar a eficácia do procedimento metodológico utilizado para promover osteopenia em ratas;

Verificar a eficácia do procedimento metodológico utilizado para promover desnervação simpática;

Analisar a atuação do sistema nervoso simpático sobre parâmetros físicos e biomecânicos do fêmur sobre a osteopenia induzida pela castração em ratas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 *Animais*

Utilizou-se ratas Wistar adultas com quatro meses de idade no início do tratamento, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

O experimento realizou-se no laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar. As ratas foram mantidas no biotério deste laboratório, num regime de luz (10 horas claro e 14 horas escuro) e temperatura controlados ($25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Os animais receberam ração comercial e água “*ad libitum*”.

Os animais foram sacrificados por decapitação ao término de cada experimento, o sangue do tronco foi coletado, e os fêmures foram dissecados e mantidos em salina a 0,9% em uma temperatura de -20°C até o início das análises.

3.2 *Ovariectomia*

A ovariectomia foi realizada segundo a técnica descrita por ZARROW *et al* (1964).

A osteopenia aparece dois meses após a ovariectomia (KALU, 1991; THOMPSON *et al*, 1995).

3.3 *Protocolo Experimental*

Analizou-se os efeitos da Guanetidina sobre as características ósseas, dividindo aleatoriamente os animais em diferentes grupos experimentais.

GRUPO BASAL (B) – Animais intactos sacrificados aos quatro meses de idade.

GRUPO INTACTO (I) – Animais intactos tratados com salina 0,9%, via subcutânea (sc), com aplicação de 0,1ml / 100g de peso corporal (PC), sacrificados aos 6 meses de idade.

GRUPO CASTRADO (C) – Animais ovariectomizados tratados com salina 0,9%, via sc, com aplicação de 0,1ml / 100g de PC, sacrificados com 6 meses de idade.

GRUPO TRATADO POR 6 SEMANAS (6 SEM) – Animais ovariectomizados tratados com guanetidina. Utilizou-se uma dose de 37mg/kg PC, via sc. (CHERRUAU *et al.*, 1999).

GRUPO TRATADO POR 8 SEMANAS (8 SEM) - Animais ovariectomizados tratados com guanetidina. Utilizou-se uma dose de 40mg / kg PC, via sc.

Iniciou-se o tratamento, nos diferentes grupos experimentais, 24 horas após a ovariectomia, sendo feito uma vez por dia, durante o período da manhã (entre 11- 12 horas), seis dias por semana.

3.4 *Parâmetros Estudados*

3.4.1 *Propriedades Biométricas*

Peso Corporal

O peso corporal de cada animal dos diferentes grupos experimentais foi verificado semanalmente, tanto para a correção do volume da droga ou do veículo utilizado, como para a monitoração do crescimento e da saúde dos animais.

Comprimento dos fêmures

Anteriormente à realização do teste de flexão a três pontos (descrita a seguir), com a utilização de um paquímetro, mediu-se o comprimento dos fêmures.

Diâmetros Externos da Diáfise Femural

Anteriormente ao teste de flexão a três pontos, com a utilização de um paquímetro, mediu-se os diâmetros maior e menor da diáfise femural, na porção distal do osso.

3.4.2 Propriedades Biomecânicas do Fêmur

Ensaio Mecânico de Flexão a três Pontos

Foi realizado o teste biomecânico (flexão óssea) com o fêmur direito. Doze horas antes dos ensaios, os ossos foram descongelados à temperatura ambiente e mantidos em solução salina até o momento que antecedeu ao teste. Os ensaios mecânicos foram realizados em uma Máquina de Ensaio Universal Instron, modelo 4444 (fig. 1), em temperatura ambiente (ENGESAETER ;EKELAND & LANGELAND, 1978; PENG *et al*, 1994). As extremidades do fêmur ficaram apoiadas em dois roletes com diâmetro de 3,0mm, suportados por apoios distanciados de 21,70mm.

A força foi aplicada perpendicularmente ao eixo longitudinal do osso, no sentido póstero-anterior, no meio da distância entre os dois apoios, por uma haste cilíndrica com o rolete de 3,0mm fixada na sua extremidade, numa velocidade constante de 0,5 cm/min., até a fratura do osso. A força aplicada e o deslocamento do travessão da máquina foram

monitorados e registrados através de um software, próprio do equipamento. Foi utilizada a célula de carga Instron, modelo CM, com capacidade máxima de 100 Kgf.

Desse modo, foram obtidas as curvas de força-deformação para os diversos ensaios e os parâmetros relacionados a seguir foram analisados (fig. 2).


Força Máxima (N)

Caracteriza a maior força aplicada no ensaio, também conhecida como última força (F_2).

Resiliência (mJ)

Determinada pela área sob a curva força-deformação até o limite elástico (A).

Tenacidade (mJ)

Determinada pela área sob a curva força-deformação até o ponto de ruptura óssea ()

Rigidez (N/mm)

Obtida através da inclinação da reta (R) ajustada aos pontos da curva força-deformação na fase elástica.

Deslocamento Máximo (cm)

É o ponto máximo da curva força-deformação até a fratura (D).

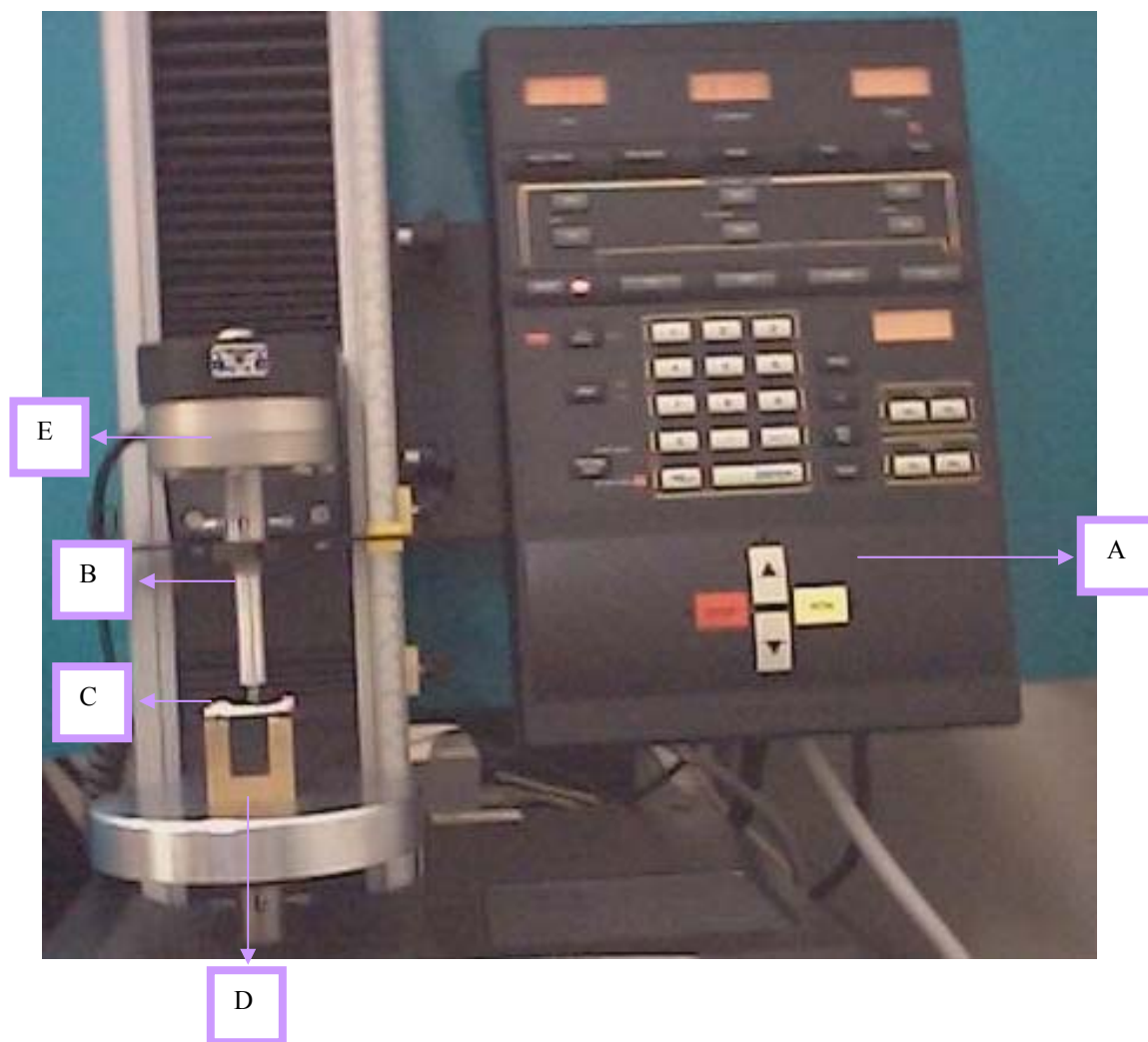


Figura 1. Foto da máquina de ensaio universal Instron (modelo 4444) demonstrando um teste de flexão a três pontos em um fêmur de rata. A: painel de controle; B: haste cilíndrica para a aplicação de carga (força); C: osso; D: suporte; E: célula de carga ligada à ponte de extensimetria.

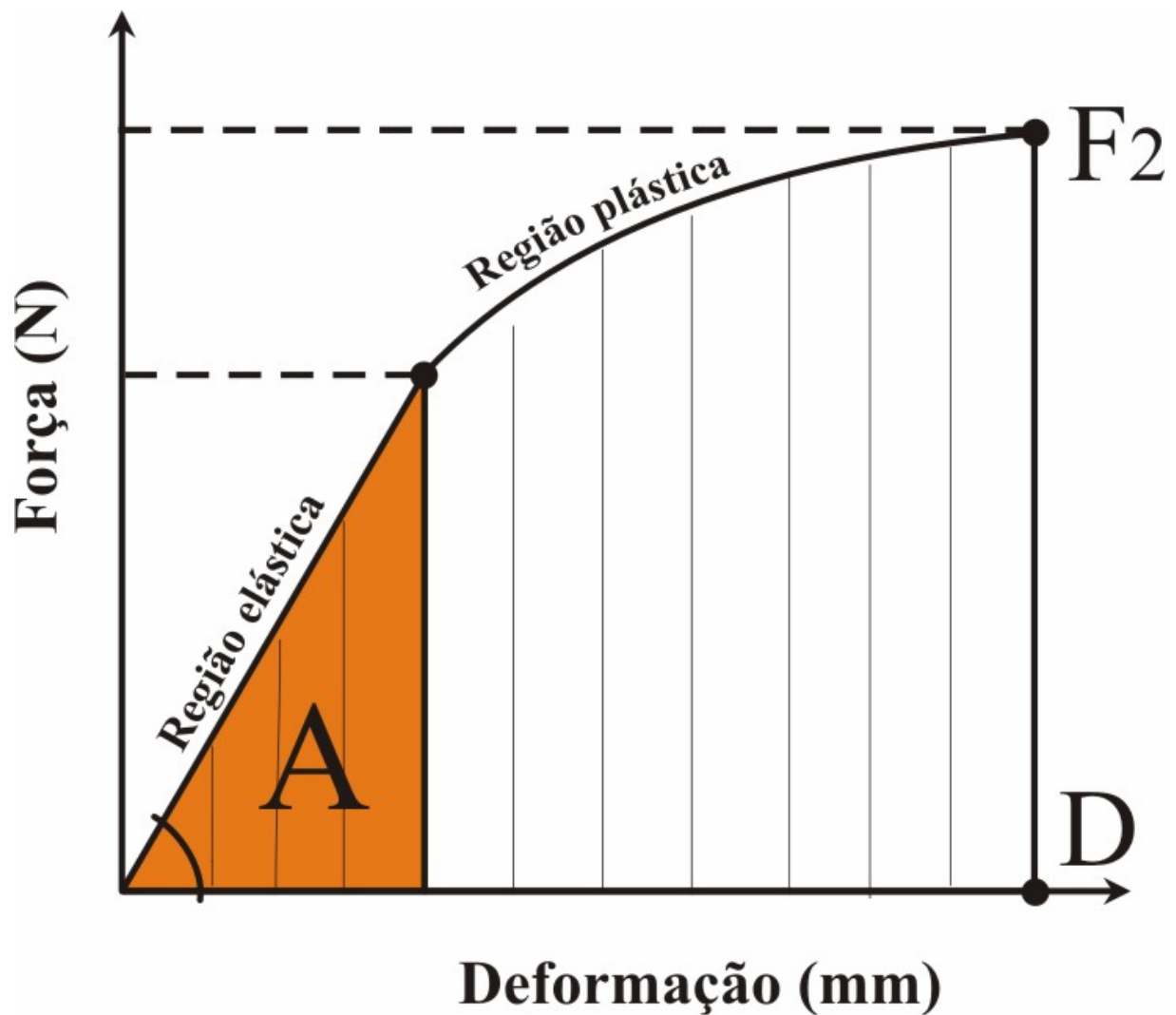


Figura 2. Representação do gráfico força-deformação obtido durante o teste de flexão a três pontos do fêmur de ratas. Estão representadas as definições das propriedades biomecânicas analisadas neste estudo. Força máxima (F_2), resiliência (A), tenacidade (porção hachurada), rigidez (inclinação da reta), deslocamento máximo (D).

3.4.3 Propriedades Físicas dos Fêmures Direitos

Após o término do teste de flexão a três pontos, os fêmures direitos foram mantidos em água destilada e colocados no dessecador durante 24 horas com a finalidade de retirar o ar dos poros ósseos.

Os seguintes parâmetros foram verificados: Peso imerso (P_i) e peso úmido (P). A seguir, os ossos foram desidratados em uma estufa (marca Funbec) a 100°C , durante 24 horas, obtendo-se assim o peso seco (P_s).

Para obtenção do peso das cinzas (P_m), os ossos foram colocados em uma mufla a 800°C durante 24 horas. Para tais mensurações foi utilizada uma balança eletrônica (marca Chyo).

A densidade mineral e óssea dos fêmures direitos, bem como os percentuais ósseos, mineral e orgânico, foram calculados a partir das equações abaixo, que seguem o Princípio de Arquimedes.

$$\text{Volume Ósseo} = \frac{P_u - P_i}{\rho} \quad (\text{cm}^3)$$

$$\text{Densidade Óssea} = \frac{P_u}{\text{Volume ósseo}} \quad (\text{g/cm}^3)$$

$$\text{Densidade Mineral} = \frac{P_m}{\text{Volume ósseo}} \quad (\text{g/cm}^3)$$

$$\text{Percentual Ósseo da Água} = \frac{P_u - P_s}{P_u} 100 \quad (\%)$$

$$\textit{Percentual Ósseo de Material Orgânico} = \frac{P_s - P_m}{P_u} 100 \quad (\%)$$

$$\textit{Percentual de Material Mineral} = \frac{P_m}{P_u} 100 \quad (\%)$$

Onde:

P_m – Peso do Material Mineral (g)

P_s – Peso Ósseo da Amostra Desidratada (g)

P_u – Peso Úmido do Osso (g)

P_i – Peso do Osso Imerso (g)

ρ - Densidade da Água (g/cm³)

3.4.4 *Cálcio Plasmático e do Fêmur Direito*

Foram analisadas as concentrações plasmáticas de cálcio dos animais com a utilização de um kit comercial colorimétrico da marca Labtest.

Após a obtenção do material mineral, os ossos foram solubilizados em ácido clorídrico 2N e o conteúdo de cálcio foi determinado utilizando-se o mesmo kit citado anteriormente.

3.5 *Análise Estatística*

Os resultados obtidos foram comparados entre os grupos experimentais e dentro de cada grupo. Para isto foram utilizados os testes de ANOVA e não-paramétricos de Mann-Whitney, aplicados pelo Software Instat.

Normas Técnicas referentes à elaboração deste trabalho

A estrutura geral deste trabalho, bem como as referências bibliográficas e citações, seguem a NBR 6023 e 14724 de março de 2004, de autoria da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT.

4 RESULTADOS

Todos os animais tratados com guanetidina apresentaram ptose palpebral e diarreia intensa.

4.1 *Propriedades Biométricas*

Peso Corporal

A tabela 1 e figura 3, apresentam os valores de Peso Corporal inicial e final e o ganho de peso dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 1 - Pesos Corporais (PC) iniciais, finais e ganho de peso (Δ) dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros			
Grupos	PC inicial (g)	PC final (g)	Δ PC (g)
Basal	246,56 \pm 5,43	-----	-----
Intacto	252,88 \pm 6,89	276,00 \pm 8,64	23,13 \pm 3,15
Castrado	236,43 \pm 0,84	301,00 \pm 4,24 ²	64,57 \pm 4,92 ²
Trat / 6 sem.	245,33 \pm 3,42	309,67 \pm 3,74 ²	64,33 \pm 3,46 ²
Trat / 8 sem.	246,63 \pm 4,77	281,50 \pm 6,43 ^{3,4}	34,88 \pm 6,78 ^{3,4}

Média \pm EPM, n=7-9, ²p < 0,05 vs Intacto, ³ vs Castrado, ⁴ vs Trat / 6 sem.

Não se observa diferença do Peso Corporal inicial entre os diferentes grupos experimentais. Os grupos Castrado e o Trat/ 6 sem. apresentam maior ganho de Peso Corporal em relação ao grupo Intacto. O grupo Trat/ 8 sem apresenta menor ganho de PC ao ser comparado com os grupos Castrado e Trat/ 6 sem.

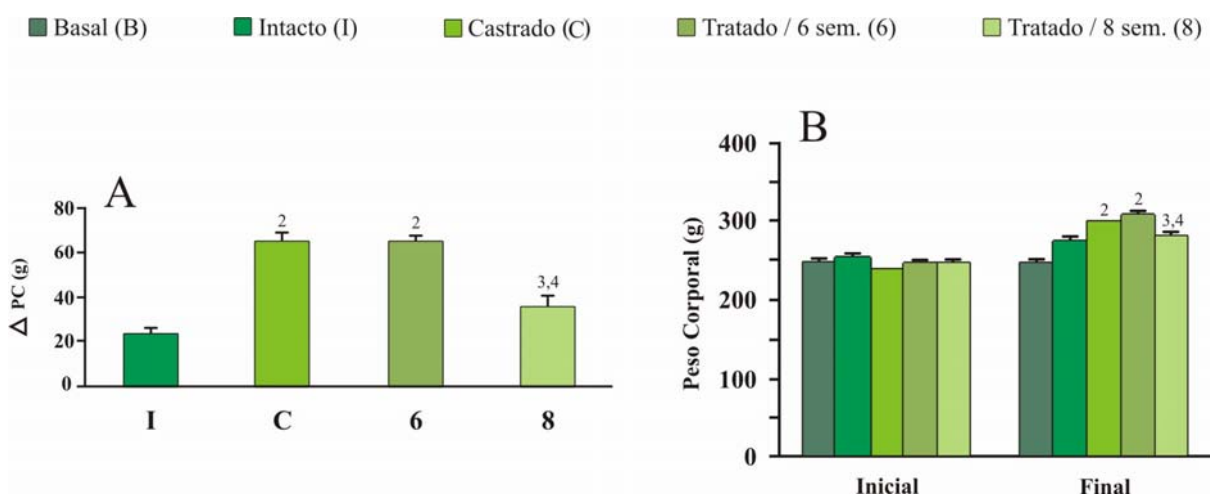


Figura 3. Média \pm EPM do ganho de peso corporal (A) e peso corporal inicial e final (B) dos animais dos diferentes grupos experimentais, n=7-9, ² p < 0,05 vs Intacto, ³ vs Castrado, ⁴ vs Trat / 6 sem.

Comprimento e diâmetros

A tabela 2 e figura 4, apresentam os valores de comprimento do fêmur e diâmetros maior e menor da diáfise femural, de animais dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 2 - Comprimento (comp) do fêmur, diâmetro maior ($\emptyset >$) e menor ($\emptyset <$) da diáfise femural dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Grupos	Parâmetros		
	comp. (mm)	$\emptyset >$ (mm)	$\emptyset <$ (mm)
Basal	34,1 ± 0,29	3,7 ± 0,06	2,8 ± 0,02
Intacto	36,0 ± 0,39 ¹	4,1 ± 0,09 ¹	2,9 ± 0,07
Castrado	36,6 ± 0,18 ¹	4,2 ± 0,25 ¹	2,8 ± 0,05
Trat / 6 sem	36,7 ± 0,13 ¹	4,0 ± 0,05 ¹	2,9 ± 0,03
Trat / 8 sem	35,4 ± 0,35 ^{1,3,4}	4,0 ± 0,06 ¹	3,0 ± 0,04 ¹

Média ± EPM, n= 7-9, para ¹ p < 0,05 vs Basal, para ³ vs Castrado, para ⁴ vs Trat / 6 sem.

O grupo Basal apresentou diâmetro maior da diáfise e comprimento dos fêmures menores do que os demais grupos. O diâmetro menor do grupo Trat / 8 sem. foi maior do que o do grupo Basal. O grupo Trat / 8 sem. apresentou menor valor para comprimento quando comparado aos grupos Castrado e Trat / 6 sem.

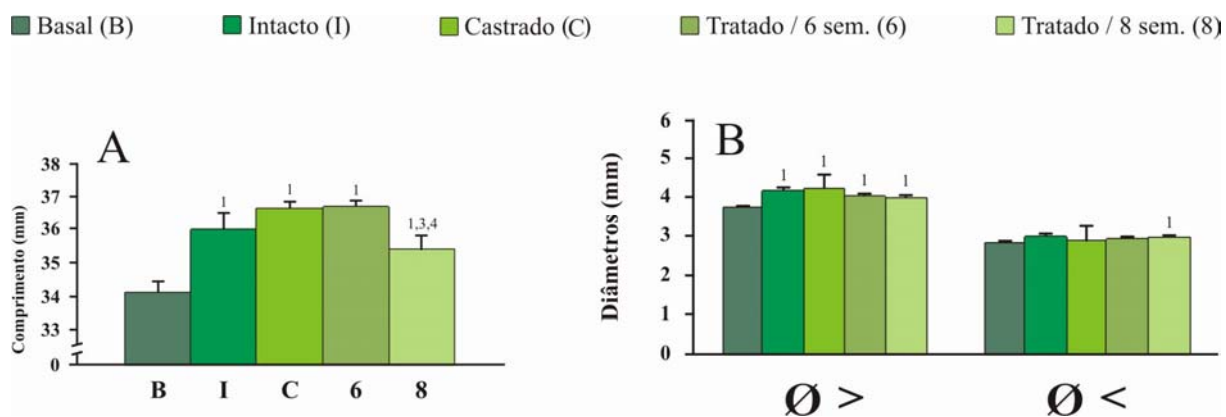


Figura 4. Média \pm EPM do Comprimento do fêmur (A), Diâmetros Maior e Menor da diáfise femural (B) de ratas dos diferentes grupos experimentais, $n=7-9$, para ¹ $p < 0,05$ vs Basal, ³ vs Castrado, ⁴ vs Trat / 6 sem.

4.2 Propriedades Biomecânicas

A tabela 3 apresenta os valores de Força Máxima, Deslocamento Máximo, Resiliência, Tenacidade e Rigidez de fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais, obtidos com o teste de flexão a 3 pontos. A representação destes resultados encontram-se na figura 5.

Tabela 3 - Força Máxima (F_{máx}), Deslocamento Máximo (D_{máx}), Resiliência (Res), Tenacidade (Ten) e Rigidez (Rig) obtidos com o teste de flexão a 3 pontos com os fêmures dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros					
Grupos	F _{máx} (N)	D _{máx} (cm)	Res (J)	Ten (Mpa)	Rig(N/cm)
Basal	74,9 ± 2,84	0,795 ± 0,04	0,035 ± 0,002	0,0088 ± 0,0008	115,9 ± 6,82
Intacto	85,2 ± 3,96	0,681 ± 0,02 ¹	0,036 ± 0,002	0,0082 ± 0,0008	167,7 ± 9,70 ¹
Castrado	81,2 ± 1,81	0,705 ± 0,02	0,033 ± 0,002	0,0093 ± 0,0008	140,4 ± 4,30 ^{1,2}
6 sem	73,6 ± 9,49	0,711 ± 0,08 ¹	0,031 ± 0,005	0,0069 ± 0,0010	143,9 ± 19,0 ¹
8 sem	78,2 ± 1,75	0,703 ± 0,03	0,034 ± 0,001	0,0082 ± 0,0005	142,0 ± 7,86 ¹

Média ± EPM, n=7-9, para ¹ p< 0,05 vs Basal, ² vs Intacto.

Os valores de F_{máx} (fig. 5A) não diferiram entre os diferentes grupos experimentais. Valores menores são observados quando se analisa o Deslocamento Máximo (fig. 5B) dos grupos Intacto e Trat / 6sem comparando-os ao grupo Basal. Não se observa diferença entre os grupos nos parâmetros Resiliência (fig. 5C) e Tenacidade (fig. 5D). O grupo Basal apresentou menor Rigidez (fig. 5E) do que os demais grupos. O grupo Castrado apresentou menor Rigidez que o grupo Intacto.

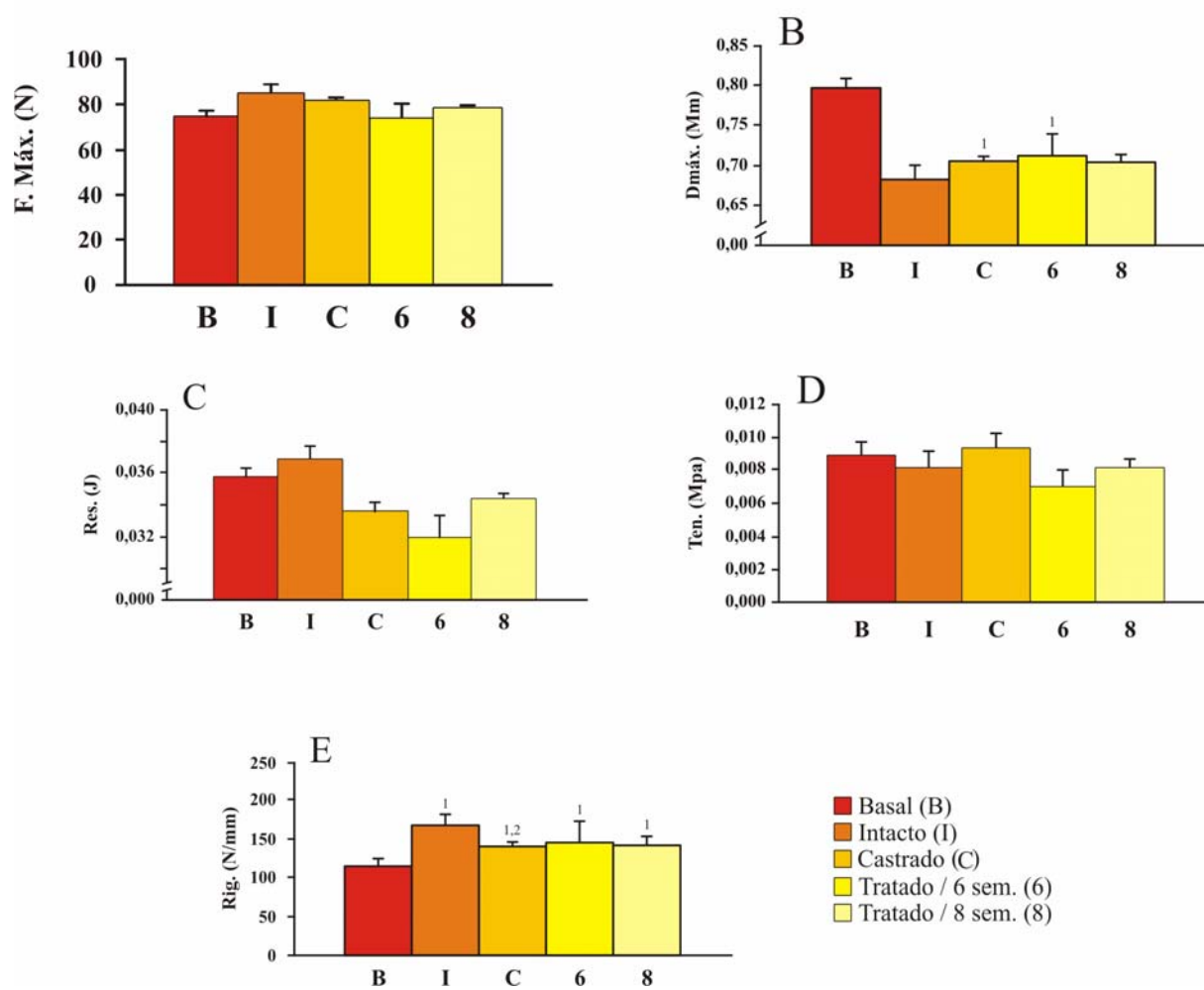


Figura 5. Média ± EPM da Força Máxima (A), Deslocamento Máximo (B), Resiliência (C), Tenacidade (D) e Rigidez (E) dos fêmures de ratos dos diferentes grupos experimentais, obtidos com o teste de flexão a três pontos, $n=7-9$, para ¹ $p < 0,05$ vs Basal, ² vs Intacto.

4.3 Propriedades Físicas

A tabela 4 e a figura 6, apresentam valores para peso das cinzas, volume ósseo, densidade óssea e densidade mineral de fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 4 - Peso das cinzas (Pc), volume ósseo (VO), densidade óssea (DO) e densidade mineral (DM) dos fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais.

Grupos	Parâmetros			
	Pc (g)	VO (cm ³)	DO (g/cm ³)	DM (g/cm ³)
Basal	0,281 ± 0,007	0,438 ± 0,013	1,53 ± 0,007	0,643 ± 0,009
Intacto	0,336 ± 0,018 ¹	0,492 ± 0,023	1,56 ± 0,008 ¹	0,683 ± 0,009 ¹
Castrado	0,291 ± 0,006 ²	0,477 ± 0,010	1,51 ± 0,010 ²	0,610 ± 0,012 ²
Trat / 6 sem	0,301 ± 0,007	0,471 ± 0,008	1,53 ± 0,004 ²	0,638 ± 0,005 ²
Trat / 8 sem	0,281 ± 0,008 ²	0,458 ± 0,012	1,51 ± 0,009 ²	0,614 ± 0,011 ²

Média ± EPM, n=7-9, para ¹ p<0,05 vs Basal, ² vs Intacto.

O peso das cinzas (fig. 6A) foi maior para o grupo Intacto quando comparado aos grupos Basal e Castrado e Trat./ 8 sem. Os valores de volume ósseo (fig. 6B) não diferiram entre os diferentes grupos experimentais. Quanto à densidade óssea e mineral (fig. 6C), animais do grupo Intacto apresentaram maiores valores quando comparados ao grupo Basal. Porém, os animais dos grupos Castrado, Trat / 6 sem. e Trat / 8 sem. tiveram valores menores que o grupo Intacto.

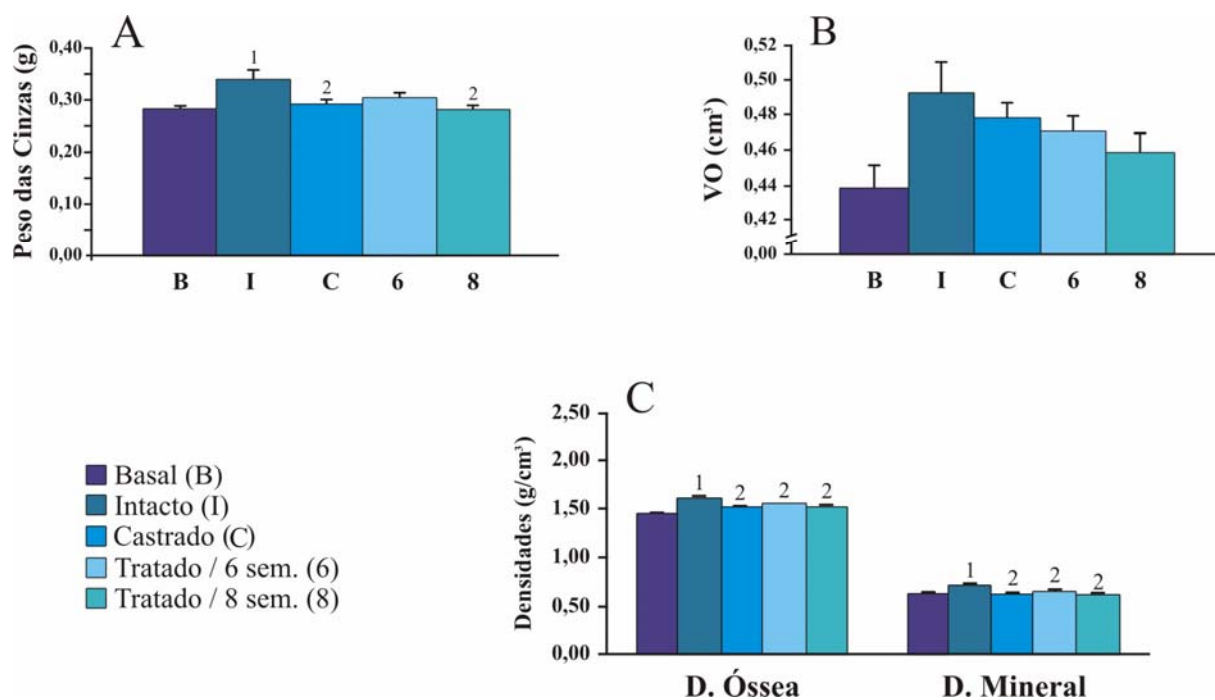


Figura 6. Média \pm EPM do peso das cinzas (A), volume ósseo (VO) (B), densidade óssea e densidade mineral (C), obtidos através de ensaios físicos em fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais, $n=7-9$, para ¹ $p < 0,05$ vs Basal, ² vs Intacto.

A tabela 5 e a figura 7 apresentam os valores de porcentagem de água, de material orgânico e de material mineral de fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 5 - Porcentagem de água (% água), de material orgânico (%MO) e de material mineral (%MM) dos fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros			
Grupos	% água	%MO	%MM
Basal	40,30 ± 0,54	17,94 ± 0,12	41,76 ± 0,43
Intacto	37,98 ± 0,50 ¹	18,48 ± 1,17 ¹	43,53 ± 0,39 ¹
Castrado	41,08 ± 0,69 ²	18,58 ± 0,30	40,33 ± 0,58 ²
Tratado/ 6 sem	39,67 ± 0,25 ²	18,73 ± 0,14 ¹	41,60 ± 0,22 ²
Tratado/ 8 sem.	40,70 ± 0,55 ²	18,76 ± 0,33 ¹	40,54 ± 0,48 ²

Média ± EPM, onde n=7-9, para ¹ p< 0,05 vs Basal, para ² p< 0,05 vs Intacto.

O grupo Intacto apresenta menor porcentagem de água (fig. 7A) e maiores porcentagens de material orgânico e mineral (fig. 7B) do que o Grupo Basal. Os grupos Trat/6sem. e Trat/8sem. apresentam maior porcentagem de material orgânico que o grupo Basal. Os grupos Castrado, Tratado/6 sem. e Tratado/8 sem. apresentam maior porcentagem de água e menor porcentagem de material mineral que o grupo Intacto. As porcentagens de água, material orgânico e material mineral dos grupos tratados foram semelhantes ao grupo Castrado.

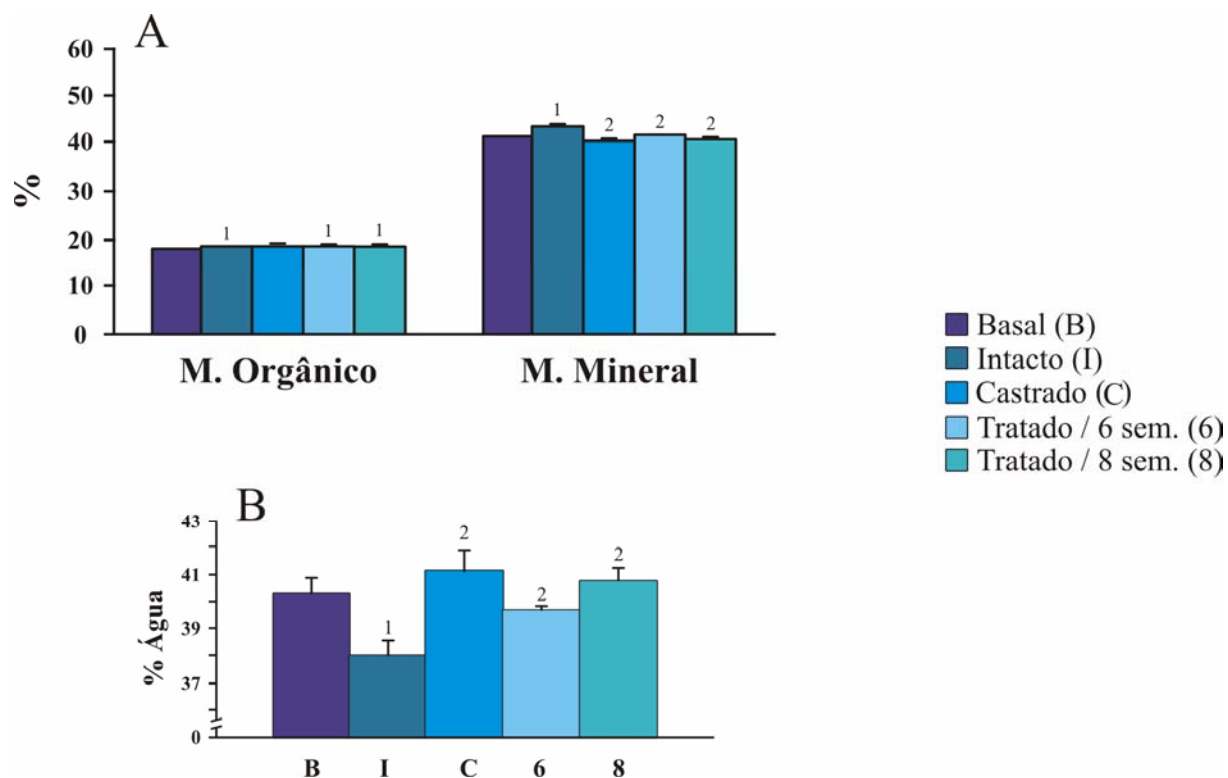


Figura 7. Média \pm EPM da porcentagem de material orgânico e mineral (A) e porcentagem de água (B), obtidos através de ensaios físicos em fêmures de ratas dos diferentes grupos experimentais, $n=7-9$, para ¹ $p < 0,05$ vs Basal, ² vs Intacto.

4.4 Cálculo Plasmático e do Fêmur

A tabela 6 e a figura 8 apresentam os valores de cálcio plasmático (Ca^{+2} Plasmático) e conteúdo de cálcio total do fêmur das ratas dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 6 – Cálcio Plasmático (Ca^{+2} Plasmático) e conteúdo total de cálcio do fêmur dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros		
Grupos	Ca^{+2} Plasmático (mg/dl)	Conteúdo Total Ca^{+2} (mg)
Basal	$10,21 \pm 0,1804$	$144,7 \pm 4,8348$
Intacto	$9,26 \pm 0,1207^1$	$169,9 \pm 9,7852^1$
Castrado	$9,37 \pm 0,1366^1$	$155,9 \pm 3,1503$
Trat / 6 sem.	$8,87 \pm 0,0992^{1,2,3}$	$148,9 \pm 5,7059$
Trat / 8 sem.	$8,89 \pm 0,2249^1$	$147,8 \pm 6,6886$

Média \pm EPM, n=7-9, ¹ p < 0,05 vs Basal, ² vs Intacto, ³ vs Castrado.

Valores menores são observados ao analisar cálcio plasmático das ratas dos grupos Intacto, Castrado, Trat/ 6 sem, Trat / 8 sem comparando-os ao grupo Basal, e ainda, ao comparar o grupo Trat / 6 sem com os grupos Intacto e Castrado (fig. 8A). O grupo Intacto obteve maior valor para o Conteúdo Ca^{+2} Total ao ser comparado com o grupo Basal (fig. 8B).

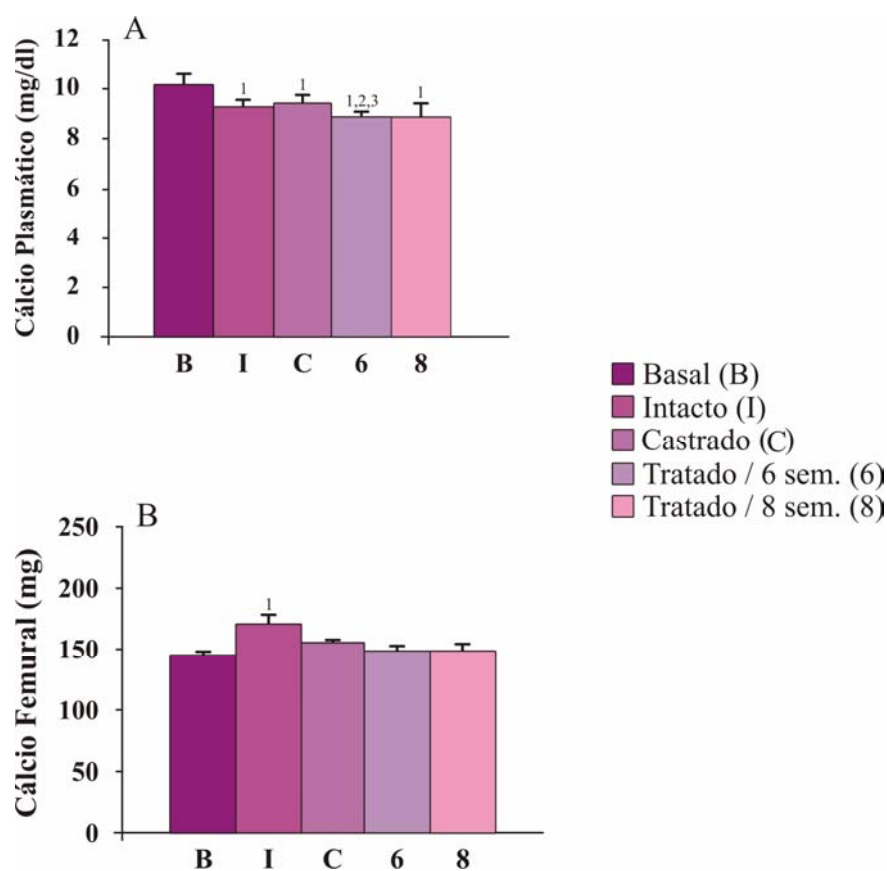


Figura 8. Média \pm EPM de Cálcio Plasmático (A) e conteúdo total de cálcio (B) do fêmur de ratas dos diferentes grupos experimentais, n= 7-9, para ¹ p < 0,05 vs Basal, ² vs Intacto, ³ vs Castrado.

5 DISCUSSÃO

5.1 *Propriedades Biométricas e Físicas*

De acordo com diversos estudos, animais ovariectomizados apresentam maior ganho de peso corporal, quando comparados a animais intactos (COXAM *et al.*, 1996; ERBEN *et al.*, 1996; HOCK *et al.*, 1988; KALU,1991; PENG *et al.*, 1994). No presente estudo encontrou-se resultado semelhante para o grupo castrado e tratado/ 6 sem. em relação aos Intactos, como observado por vários autores (AKHTER *et al.*, 2002; BREITMAN *et al.*, 2003; DAÍ *et al.*, 2003; JIANG *et al.*, 1995; KALU *et al.*, 1989; KATSUMATA *et al.*, 1995; KE *et al.*, 1995; 1997; SATO; ZENG; TURNER, 1997; TURNER *et al.*, 1995). Entretanto, o aumento do peso corporal dos animais do grupo tratado/ 8 sem. foi menor do que o do grupo Castrado (tabela 1, figura 3A e 3B). O SNS apresenta ação inibitória sobre a secreção de Leptina, levando a um aumento de sua concentração no plasma de animais simpatectomizados (EIKELIS *et al.*, 2003; RAYNER, 2001). Estas maiores concentrações plasmáticas de Leptina - hormônio com função anorexigênica, segundo ELEFTERIOU *et. al.* (2004) - poderia provocar uma diminuição da ingestão alimentar nestes animais, que acarretaria menor ganho de peso corporal. Porém, como o ganho de peso corporal do grupo Tratado / 6 semanas não diferiu do grupo apenas castrado, provavelmente esta não seria a explicação. Animais tratados com guanetidina desenvolvem diarreia, fato que pode dificultar a absorção de nutrientes e influenciar ganho de peso corporal. Provavelmente este seria o motivo dos animais do grupo Trat / 8 sem. terem um ganho de peso menor, já que foram tratados por mais

tempo, além de terem recebido guanetidina em maior concentração (40mg/Kg PC) do que os Trat. / 6 sem (37mg/Kg PC).

O comprimento do fêmur e o diâmetro maior da diáfise femural mostraram-se maiores para os animais de todos os grupos em relação ao grupo Basal (tabela 2, figura 4A). Estes dados corroboram com DRIUSSO (2003), cuja metodologia adotada foi semelhante a do presente estudo, e com KALU (1991), quando demonstra que em modelo de ratos sexualmente maduros o crescimento ósseo é consideravelmente mais lento, mas não cessa, motivo pelo qual há necessidade de incluir um grupo de animais sacrificados no início do experimento, como controle basal. O grupo Trat. / 8 sem. apresentou menor desenvolvimento uma vez que o ganho de peso corporal (tabela 1, figura 3A) e o comprimento do fêmur (tabela 2, figura 4A) foram menores, quando comparado aos grupos Castrado e Trat. / 6 sem. Este menor desenvolvimento provavelmente se deve ao fato que após a desnervação, a leptina periférica encontra-se em concentrações altas, atuando de forma inibitória sobre a formação óssea, além da ocorrência da diarreia discutida anteriormente, por isso, cabe aqui mostrar o conceito de que a via de regulação da massa óssea pela leptina é distinta em relação ao peso corporal (DUCY *et al.*, 2000; EIKELIS *et al.*, 2003; TAKEDA *et al.*, 2002; TAKEDA; ELEFTERIOU; KARSENTY, 2003; TAKEDA, 2004), e mais, o fato dos animais Trat. / 8 sem. terem recebido administração de guanetidina em doses mais altas (40mg/Kg PC dia) e durante um tempo maior que os animais Trat. / 6 sem. (37mg/Kg PC dia), pode ter conduzido uma atuação anti-osteogênica mais eficaz nos animais que receberam tratamento por mais tempo.

A aparente variabilidade observada dos parâmetros biométricos (peso corporal, comprimento, diâmetro maior e menor) (tabela 1 e 2, figuras 3A, 3B, 4A, 4B, respectivamente) talvez possa ser explicada pelo fato de ter sido utilizado ratas sexualmente maduras avaliadas 8 semanas após a castração como observado por PENG *et al.* (1994). Segundo KALU (1991), ratas castradas em torno de 4 meses de idade podem ou não

apresentar aceleração do crescimento linear ósseo, pois a deficiência de estrógeno pode acarretar em um aumento potencial do crescimento ósseo, aumentando o volume ósseo trabecular metafiseal. Quando esse efeito ocorre, é apenas transitório, pois com o passar do tempo o efeito da deficiência hormonal torna-se dominante sobre o balanço ósseo.

Verificou-se o efeito da idade, nas propriedades físicas (peso das cinzas, volume ósseo, densidade óssea e densidade mineral) (tabela 4, figura 6A, 6B, 6C, respectivamente) dos animais dos diferentes grupos experimentais, quando comparados ao grupo Basal. Assim, fica evidente a necessidade de inclusão do grupo Basal para a averiguação dos efeitos da castração relacionados ao crescimento corporal.

A castração induziu osteopenia nos animais, quando se verifica a densidade óssea e densidade mineral dos animais dos grupos Castrado, Trat / 6 sem e Trat / 8 sem, comparando-os ao grupo Intacto (Tabela 4, figura 6C), como visto na literatura (AKHTER *et al.*, 2002; BREITMAN *et al.*, 2003; COXAM *et al.*, 1996; JIANG *et al.*, 1995; KATSUMATA *et al.*, 1995; NORDSLETTEN *et al.*, 1994), confirmando a eficácia do protocolo experimental utilizado no presente estudo. As análises dos percentuais ósseos (tabela 5, figura 7D, 7E) também mostram que a castração promove uma diminuição do conteúdo mineral ósseo compensado pelo aumento do teor de água do osso, fato confirmado por alguns autores na literatura (COXAM *et al.*, 1996; KALU, 1991; PENG *et al.*, 1994).

No modelo periostal de reabsorção dirigida mecanicamente (extração dental mandibular) utilizado por CHERRUAU *et al.* (1999), verificou-se que a reabsorção foi reduzida após a administração da guanetidina em ratos adultos. No presente estudo, analisando as propriedades físicas, verificou-se que a castração induziu reabsorção óssea (grupo Castrado) e a desnervação induzida pela guanetidina não modificou esta resposta (Trat./ 6 semanas, Trat. / 8 semanas). A controvérsia destes resultados pode ter ocorrido por

terem sido utilizadas diferentes metodologias onde os tecidos ósseos escolhidos são de origens embriogênicas distintas, admitindo respostas diferentes para tratamentos semelhantes.

5.2 *Propriedades Biomecânicas*

A fraqueza osteoporótica predispõe a fraturas, o que em humanos pode ocorrer espontaneamente, ou seguindo um mínimo trauma. Em ratos, a osteopenia não leva a fraturas (KALU, 1991), mas através da análise de parâmetros biomecânicos pode-se avaliar a resistência mecânica e a qualidade óssea dos animais estudados (PENG *et al.*, 1994).

Quando um espécime ósseo é testado sob condições laboratoriais controladas e conhece-se a força aplicada e a deformação, propriedades mecânicas básicas podem ser obtidas através da curva força-deformação (BOUXSEIN; MYERS; HAYES, 1996; EINHORN, 1996).

A porção linear da curva força-deformação representa a fase elástica e o ângulo formado em qualquer ponto desta linha com a abscissa, define a rigidez do osso. Segundo MADSEN *et al.* (1996), não se obteve diferença no ensaio biomecânico para rigidez, na haste e colo femoral de ratos com desnervação cirúrgica do nervo ciático após fratura tibial, quando comparado ao grupo sham, fato também visto por alguns autores na literatura (BREITMAN *et al.*, 2003; GIAVARESI *et al.*, 1999; KATSUMATA *et al.*, 1995; PENG *et al.*, 1994). No presente estudo a rigidez (tabela 3, figura 5E) revela que a castração reduz a resistência óssea, demonstrando mais uma vez sua eficácia em promover osteopenia, corroborando com os parâmetros físicos e biométricos analisados anteriormente, também visto na literatura por alguns autores (NORDSLETTEN *et al.*, 1994; SATO; ZENG; TURNER, 1997). O tratamento com guanetidina não modificou esta resposta.

Resiliência é a característica óssea de resistir a um esforço sem sofrer deformação permanente. Neste estudo, verificou-se uma tendência em promover osteopenia nos animais castrados quando comparados aos intactos nos parâmetros de resiliência e força máxima (maior esforço que o osso pode suportar sem ocorrer redução da sua secção transversa e danos permanentes em sua estrutura) (tabela 3, figura 5C e 5A, respectivamente), como observado por vários autores (BARENGOLTS *et al.*, 1990; BREITMAN *et al.*, 2003; GIAVARESI *et al.*, 1999; JIANG *et al.*, 1995; PENG *et al.*, 1999). Os animais tratados com guanetidina não modificaram esta resposta.

O deslocamento máximo e tenacidade (tabela 3, figura 5B, 5D, respectivamente) não apresentaram comportamento uniforme entre os animais dos diferentes grupos experimentais oferecendo informações inconsistentes para analisar os efeitos da castração e do tratamento realizado.

5.3 *Cálcio Plasmático e Femural*

Verificou-se uma diminuição da concentração plasmática de cálcio em todos os grupos experimentais em relação ao grupo Basal, mostrando o efeito da idade nas ratas ao observar o metabolismo de cálcio (NORDIN, 1996) (tabela 6, figura 8A), fato também observado com parâmetros biomecânicos (rigidez) e os parâmetros físicos (peso das cinzas, densidade óssea e densidade mineral). Os animais do grupo Trat / 6 semanas tiveram níveis baixos para cálcio plasmático quando comparado aos grupos Intacto e Castrado (tabela 6, figura 8A). Os animais do grupo Trat / 8 semanas não alteraram as concentrações plasmáticas de cálcio quando comparado aos grupos Intacto e Castrado (tabela 6, figura 8B), podendo indicar que os mecanismos de regulação de cálcio destes animais funcionaram satisfatoriamente, ou seja, não

houve diferença entre os grupos tratados e seu controle, como visto por vários autores na literatura (ERBER *et al.*, 1996; HOCK *et al.*, 1988; JIANG *et al.*, 2005; KALU *et al.*, 1989; KATSUMATA *et al.*, 1995; MASON; MORRIS, 1997). Segundo KALU (1991), a existência de uma discordância entre os resultados mostrados por diversos trabalhos, referentes às mudanças que ocorrem nos níveis sanguíneos dos hormônios reguladores das concentrações de cálcio devido à deficiência de hormônios sexuais podem decorrer de fatores que não estão primariamente relacionados à etiologia da osteoporose, justificando as controvérsias dos resultados relacionados com a concentração plasmática de cálcio.

Segundo NORDSLETTEN *et al.* (1994), a ovariectomia resulta em diminuição do conteúdo de cálcio no fêmur. No presente estudo foi verificada uma tendência em diminuir o conteúdo de cálcio do fêmur dos animais do grupo Castrado quando comparado ao grupo Intacto (tabela 6, figura 8B) (JIANG *et al.*, 1995; WHITFIELD *et al.*, 1995). MADSEN *et al.* (1996) utilizaram para análise bioquímica o Estrôncio como marcador da formação óssea. O cálcio e o estrôncio seguem caminhos metabólicos similares. O estrôncio é incorporado no esqueleto pela simples troca e difusão na maturação óssea, ou pela incorporação ativa no mineral previamente fornecido ao osso. Seu grupo sham obteve concentração de estrôncio maior que o grupo com ressecção do nervo ciático, refletindo em uma diminuição da mineralização óssea.

No presente estudo, encontra-se bem caracterizada a perda óssea involucional relacionada à castração, ao ser analisado o peso das cinzas, densidade mineral, densidade óssea e o percentual de material mineral dos animais dos diferentes grupos experimentais, estando de acordo com a literatura (KALU,1991; PENG *et al.*, 1994), além de refletir estes

resultados nos valores obtidos para a rigidez no ensaio de flexão em três pontos no fêmur dos animais dos diferentes grupos experimentais.

Verificou-se o efeito da idade quando analisadas as propriedades físicas (Peso das cinzas, Densidade Óssea, Densidade Mineral) e biomecânicas (Rigidez) e químicas (cálcio plasmático, conteúdo total de cálcio) no fêmur dos animais dos diferentes grupos experimentais, quando comparados ao grupo Basal. Assim, fica evidente a necessidade da inclusão do grupo Basal para a averiguação dos efeitos da castração relacionados ao crescimento corporal, como preconiza KALU (1991).

Verificou-se que a guanetidina foi eficaz em desnervar periféricamente o sistema nervoso simpático, pois, todos os animais tratados, apresentaram ptose desde o início do tratamento até o seu sacrifício (CHERRUAU *et al.*, 1999).

A não-atuação do sistema nervoso simpático periférico sobre o tecido ósseo, ocasionada pela simpatectomia induzida pela guanetidina, não promoveu proteção aos efeitos deletérios da castração, como visto nos parâmetros de densidade óssea, densidade mineral, peso das cinzas, rigidez, porcentagem de água, porcentagem de material mineral e cálcio plasmático.

6 CONCLUSÕES

- Ocorreu crescimento dos animais de todos os grupos durante o período experimental.
- A castração foi eficaz em promover osteopenia em ratas adultas.
- O tratamento com guanetidina foi eficaz em provocar simpatectomia nos grupos tratados.
- A desnervação do sistema nervoso simpático periférico não preveniu os efeitos deletérios da castração sobre o tecido ósseo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, C.; LLORENS, A.; BAROUKH, B.; CHERRUAU, M.; SAFFAR, J.L. Effects of capsaicin-induced sensory denervation on osteoblastic resorption in adult rats. **Physiological Society**, France, v. 85.1, p.61-66, nov. 1999.

AKHTER, M.P.; IWANIEC, U.T; HAYNATZKI, G.R; FUNG, Y.K; CULLEN, D.M.; RECKER, R.R. Effects of nicotine on bone mass and strength in aged female rats. **Journal of Orthopaedic Research**, USA, v. 21, p.14-19, jul. 2002.

BARENGOLTS, E.I; GAJARDO, H. F.; ROSOL, T. J.; D'ANZA, J.J; PENA, M.; BOTSIS, J.; KUKREJA, S.C. Effects of progesterone on postovariectomy Bone Loss in Aged Rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.5, p.1143-1147, jun. 1990.

BOGLIOLO, L. Ossos e articulações. In:_____. **Patologia**. 3^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, c.26, p.942-951.

BOUXSEIN, M.L.; MYERS, E.R.; HAYES, W.C. Biomechanics of age-related fractures. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J. **Osteoporosis**. London: Academic Press, 1996, c.15, p.373-393.

BREITMAN, P.L.; FONSECA, D.; CHEUNG, A. M.; WARD, W.E. Isoflavones with supplemental calcium provide greater protection against the loss of bone mass and strength after ovariectomy compared to isoflavones alone. **Bone**, Ontario, v.33, p.597-605, jun.2003.

CHERRUAU, M.; FACCHINETTI, P.; BAROUKH, B.; SAFFAR, J.L. Chemical Sympatectomy Impairs Bone Resorption in Rats: A Role for the Sympathetic System on Bone Metabolism. **Bone**, France, v.25, p.545-551, nov. 1999.

CHERRUAU, M.; MORVAN, F.O.; SCHIRAR, A.; SAFFAR, J.L. Chemical sympathectomy-induced changes in TH-, VIP-, and CGRP-immunoreactive fibers in the rat mandible periosteum: influence on bone resorption. **Journal of Cellular Physiology**. France, v.194, p.341-348, oct. 2003.

CORBERTT, C.E. Drogas adrenérgicas, bloqueadores de neurônios adrenérgicos. In:____. **Farmacologia**. Guanabara Koogan , 5^o edição, 1977, p.77-78.

COOPER, C.; MELTON, L.J., Magnitude and Impact of Osteoporosis and Fracture. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J. **Osteoporosis**. London: Academic Express, 1996, c.17, p.419-434.

COXAM, V.; BOWMAN, B.M.; MECHAM, M.; ROTH, C.M.; MILLER, M.A.; MILLER, S.C. Effects of Dihydrotestosterone Alone and Combined with Estrogen on Bone Mineral Density, Bone Growth, and Formation Rates in Ovariectomized Rats. **Bone**, USA, v.19, p.107-114, aug. 1996.

DAÍ, R.C.; LIAO, E.Y.; YANG, C.; WU, X.P.; JIANG, Y. Microcracks: an alternative index for evaluating bone biomechanical quality. **Journal Bone and Mineral Metabolism**, v.22, p.215-223, sept. 2003.

DEMAS, G.E.; BARTNESS, T.J. Novel Method for Localized, Functional Sympathetic Nervous System Denervation of Peripheral Tissue using Guanethidine. **Journal of Neuroscience Methods**, Atlanta, v.112, p.21-28, jul. 2001.

DEMPSTER, D.W. Bone remodeling. In: RIGGS, B.L.; MELTON, L.J. **Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management**. New York: Lippincott-Raven Publishers, 1995, 2^o ed., c. 3, p.67-91.

DRIUSSO, P. **Efeitos da prolactina sobre a massa óssea de ratas ovariectomizadas**. 2003. 87p. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), 2003.

DUCY, P.; AMLING, M.; TAKEDA, S.; PRIEMEL, M.; SCHILLING, A.F.; BEIL, F.T.; SHEN, J.; VINSON, C.; RUEGER, J.M.; KARSENTY, G. Leptin Inhibits Bone Formation Through a Hypothalamic Relay: A central Control of Bone Mass. **Cell Press**, Houston, v.100, p.197-207, jan. 2000.

EIKELIS, N.; SCHLAICH, M.; AGGARWAL, A.; KAYE, D.; ESLER, M. Interactions Between Leptin and the Human Sympathetic Nervous System. **Hypertension**, Melbourne, Australia, v. 41, p. 1072-1079, mar. 2003.

EINHORN, T.A. The Bone Organ System: form and function. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J. **Osteoporosis**. New York: Academic press, 1996, c.1, p.03-22.

ELEFTERIOU, F.; TAKEDA, S.; EBIHARA, K.; MAGRE, J.; PATANO, N.; KIM, C.E.; OGAWA, Y.; LIU, X.; WARE, S.M.; CRAIGEN, W.J.; ROBERT, J.J.; VINSON, C.; NAKAO, K.; CAPEU, J.; KARSENTY, G. Serum Leptin level is a regulator of bone mass. **Proceedings of National Academy of Sciences**, Strasbourg, France, v. 101, p. 3258-3263, jan. 2004.

ENGESAETER, L. B., EKELAND, A., LANGELAND, N. Methods for testing the mechanical properties of the rat femur. **Acta Orthopædica Scandinavica**, v.49, p.512-518, 1978.

ERBEN, R.G.; BANTE, U.; BIRNER, H.; STANGASSINGER, M. Prophylactic Effects of 1,24,25 – Trihydroxyvitamin D₃ on Ovariectomy- Induced Cancellous Bone Loss in the Rat. **Calcified Tissue International**, New York, v.60, p.434-440, sept. 1996.

FROST, H.M.; JEE, W.S.S. On the Rat Model of Human Osteopenias and Osteoporoses. **Bone and Mineral**, Salt Lake City, USA, v.18, p.227-236, mar. 1992.

GIAVARESI, G.; FINI, M.; GNUD, S.; MONGIORGI, R.; RIPAMONTI, C.; ZATI, A.; GIARDINO, R. The Mechanical Properties of Fluoride - Treated Bone in the Ovariectomized Rat. **Calcified Tissue International**, New York, v.65, p.237-241, jan. 1999.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.; TAYLOR, P. Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In: ____. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Oitava edição. Pergamon Press, 1990, c. 3, p.794.

GOLD, D.T.; DREZNER, M.K. Quality of life. In: RIGGS, B.L.; MELTON, L.J., **Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management**. 2^a edição. USA: Lippincott-Raven Publishers, 1995, c.21, p.475-486.

HOCK, J.M.; GERA, I.; FONSECA, J.; RAISZ, L.G. Human Parathyroid Hormone – (1-34) Increases Bone Mass in Ovariectomized and Orchidectomized Rats. **Endocrine Society**, USA, v.122, p.2899-2904, 1988.

JIANG, Y.; ZHAO, J.; AUDEKERCKE, R.V.; DEQUEKER, J.; GEUSENS, P. Effects of Low-Dose Long-Term Sodium Fluoride Preventive Treatment on Rat Bone Mass and Biomechanical Properties. **Calcified Tissue International**, New York, v.58, p.30-39, jun 1995.

JIANG, Y.; ZHAO, J.; GEUSENS, P.; LIAO, E.Y.; ADRIAENSENS, P.; GELAN, J.; AZRIA, M.; BOONEN, S.; CAULIN, F.; LYNCH, J.A.; OUYANG, X.; GENANT, H.K. Femoral Neck Trabecular Microstructure in Ovariectomized Ewes Treated With Calcitonin: MRI Microscopic Evaluation. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.20, p.125-132, jan. 2005.

JOHNSTON, C. C.; SLEMENDA, C. W. Pathogenesis of Osteoporosis. **Bone**, USA, v.17, p.19-20, 1995.

KALU, N. D. The Ovariectomized rat model of post menopausal bone loss. **Bone and Mineral**, USA, v.15, p.175-192, 1991.

KALU, D.N.; LIU, C.C.; HARDIN, R.R.; HOLLIS, B.W. The aged Rat Model of Ovarian Hormone Deficiency Bone Loss. **Endocrinology**, USA, v.124, p.7-16, 1989.

KATSUMATA, T.; NAKAMURA, T.; OHNISHI, H.; SAKURAMA, T. Intermittent Cyclical Etidronate Treatment Maintains the Mass, Structure and the Mechanical Property of Bone in Ovariectomized Rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.10, p.921-931, 1995.

KE, H.Z.; CHEN, H.K.; QI, H.; PIRIE, C.M.; SIMMONS, H.A.; MA, Y.F.; JEE, W.S.S.; THOMPSON, D.D. Effects of Droloxifene on Prevention of Cancellous Bone Loss and Bone Turnover in the Axial Skeleton of Aged, Ovariectomized Rats. **Bone**, USA, v.17, p. 491-496, nov. 1995.

KE, H.Z.; CHEN, H.K.; SIMMONS, H.A.; QI, H.; CRAWFORD, D.T.; PIRIE, C.M.; FRINK, C.; MA, Y.F.; JEE, W.S.S.; THOMPSON, D.D. Comparative Effects of Droloxifene, Tamoxifen, and Estrogen on Bone, Serum Cholesterol, and Uterine Histology in the Ovariectomized Rat Model. **Bone**, USA, v.20, p.31-39, jan. 1997.

KIMMEL, D.B. Animal models for *in vivo* experimentation in osteoporosis research. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J. **Osteoporosis**. London: Academic Press, 1996, cap.33, p.671-690.

KHOSLA, S.; RIGGS, B.L.; MELTON, L.J. Clinical spectrum. In: RIGGS, B.L.; MELTON, L.J, **Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management**. 2^a edição. New York: Lippincott-Raven Publishers, 1995, c. 9, p.205-223.

MADSEN, J. E.; AUNE, A.K.; FALCH, J.A.; HUKKANEN, M.; KONTTINEN, Y.T.; SANTAVIRTA, S.; NORDSLETTEN, L. Neural involvement in post-traumatic osteopenia: an study in the rat. **Bone**, Oslo, Norway, v.18, p.411-416, may, 1996.

MARCUS, R. The nature of osteoporosis. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J. **Osteoporosis**. London: Academic Press, 1996, cap. 31, p.647-659.

MASON, R.A.; MORRIS, H.A. Effects of Dihydrotestosterone on Bone Biochemical Markers in Sham and Oophorectomized Rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.12, p.1431-1437, mar. 1997.

MILLER, S. C.; BOWMAN, B. M.; JEE, S. S. Available animal models of osteopenia: small and large. **Bone**, Salt Lake City, v.17, p.117-123, oct. 1995, n.4.

MINNICH, P. U. Prevention of osteoporosis and fractures. **American Academy of Family Physicians**, Kansas, v.60, p.194-202, jul. 1999.

NETO A. M. P.; SOARES, A.; URBANETZ, A.A.; SOUZA, A.C.A.; FERRARI, A.E.M.; AMARAL, B.; MOREIRA, C.; FERNANDES, C.E.; Consenso brasileiro de osteoporose 2002. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Brasil, v.42, n.6, p.343-354, 2002.

NORDIN, B. E. C. Calcium and Osteoporosis. **Nutrition**, Australia, v.13, p. 664-681, nov. 1996.

NORDSLETTEN, L.; KAASTAD, T.S.; MADSEN, J.E.; REIKERAS, °; OVSTEBO, R.; STROMME, J.H.; FALCH, J. The development of femoral osteopenia in ovariectomized rats is not reduced by high intensity treadmill training: a mechanical and densitometric study. **Calcified Tissue Intional**, New York, v.55, p.436-442, 1994.

PARFITT, A. M.; CHIR, B. Bone Remodeling and bone loss: understanding the pathophysiology of osteoporosis. In:_____. **Clinical Obstetrics and Gynecology**. Detroit: Henry Ford Hospital, 1987, v.30, n.4, p.789-811.

PENG, Z.; TUUKKANEM, J.; ZHANG, H.; JÄMSÄ, T.; VÄÄNÄNEM, H.K. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. **Bone**, Finland, v.15 (5), p.523-532, USA., 1994.

PENG, Z.; TUUKKANEN, J.; ZHANG, H.; VAANANEN, H.K. Alteration in the Machanical Competence and Strutural Properties in the Femoral Neck and Vertebrae of Ovariectomized Rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.14, p.616-623, apr. 1999.

RAYNER, D.V. The sympathetic nervous system in white adipose tissue regulation. **Proceedings of Nutrition Society**, v.60, p. 357-364, 2001.

RODAN, G.A.; RODAN, S.B. The cells of bone. In: RIGGS, B.L.; MELTON, L.J. **Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management**. 2° ed. New York: Lippincott-Raven Publishers, 1995, c.1, p.1-39.

SATO, M.; ZENG, G.Q.; TURNER, C.H. Biosynthetic Human Parathyroid Hormone (1-34) Effects on Bone Quality in Aged Ovariectomized Rats. **Endocrinology**, USA, v.138, p.4330-4337, 1997.

SEEMAN, E.; EISMAN, J.A. Treatment of osteoporosis: why, whom, when and how to treat. **MJA Praticce Essencials**, Sydney, v. 180, p.298-303, mar. 2004.

TAKEDA, S. Central control of bone remodeling. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Tokyo, v.328, p.697-699, nov. 2004.

TAKEDA, S.; ELEFTERIOU, F.; KARSENTY, G. Common endocrine control of body weight, reproduction, and bone mass. **Annual Review of Nutrition**, Houston, v.23, p. 403-411, apr. 2003.

TAKEDA, S.; ELEFTERIOU, F.; LEVASSEUR, R.; LIU, X.; ZHAO, L.; PARKER K.L.; ARMSTRONG, D.; DUCY, P.; KARSENTY, G. Leptin Regulates Bone Formation via the Sympathetic Nervous System. **Cell Press**. Dallas, v.111, p. 305-317, nov. 2002.

THADDEU, R.C; FUCHS, F.D. Farmacologia do sistema nervoso autônomo. In: **Farmacologia Clínica**. Guanabara Koogan, 1972, cap.11, p.71-84.

THOMPSON, D.D.; SIMMONS, H.A.; PIRIE, C.M.; KE, H.Z. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. **Bone**, Groton, USA, v.17, n.4, p.125s-133s, oct.1995.

TURNER, R.T.; HANNON, K.S.; GREENE, V.S.; BELL, N.H. Prednisone Inhibits Formation of Cortical Bone in Sham-Operated and Ovariectomized Female Rats. **Calcified Tissue International**, New York, v.56, p.311-315, 1995.

VÄÄNÄNEM, H. K. Pathogenesis of osteoporosis. **Calcified Tissue International**. New York, v.49, p.11-14, 1991.

VILLANUEVA, I.; PIÑÓN, M.; CORONA, L.Q.; OLIVARES, R.M.; RACOTTA, R. Epinephrine and dopamine colocalization with norepinephrine in various peripheral tissues: guanethidine effects. **Life Sciences**. Mexico, v. 73, p.1645-1653, mar. 2003.

WHITFIELD, J.F.; MORLEY, P.; ROSS, V.; ISAACS, R.J.; RIXON, R.H. Restoration of Severely Depleted Femoral Trabecular Bone in Ovariectomized Rats by Parathyroid Hormone – (1-34). **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.56, p.227-231, 1995.

WRONSKI, T. J.; DANN, L.M.; SCOTT,K.S.; CINTRÓN, M. Long term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. **Calcified Tissue International**, USA, v.45, p.360-366, 1989.

ZARROW, M. X.; YOCHIM, J.M.; McCARTHY,J.L. Experimental endocrinology: a sourcebook of basic techniques. **Academic Press**, New York, p.39-40, 1964.

APÊNDICE A - PARÂMETROS BIOMÉTRICOS E FÍSICOS - GRUPO BASAL

BASAL	(g)	(mm)	(mm)	(mm)	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
	Pinicial	comp.	Diâm. >	Diâm. <	Pcinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
	245	33,85	3,80	2,75	0,2712	0,4060	1,5544	0,6680	38,8845	18,1429	42,9726
	229	34,35	3,60	2,75	0,2947	0,4574	1,5365	0,6443	40,2675	17,8002	41,9323
	251	33,95	3,30	2,80	0,2485	0,3926	1,5311	0,6330	41,0248	17,6343	41,3409
	247	34,55	3,85	3,00	0,2928	0,4825	1,5101	0,6068	42,5062	17,3072	40,1867
	271	35,60	3,90	2,80	0,3182	0,4907	1,5439	0,6485	39,7703	18,2286	42,0011
	262	34,50	3,85	2,70	0,2778	0,4572	1,5138	0,6076	41,9882	17,8731	40,1387
	251	33,25	3,60	2,80	0,2811	0,4554	1,5187	0,6173	41,6570	17,6981	40,6449
	216	32,55	3,85	2,85	0,2612	0,3761	1,5812	0,6945	37,6829	18,3958	43,9213
	247	34,65	3,75	2,80	0,2820	0,4241	1,5569	0,6649	38,9066	18,3856	42,7079
n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
MED	246,56	34,14	3,7222	2,8056	0,2808	0,4380	1,5385	0,6428	40,30	17,94	41,76
DP	16,280	0,8785	0,1922	0,0846	0,0202	0,0402	0,0232	0,0298	1,6264	0,3720	1,3063
EPM	5,4266	0,2928	0,0641	0,0282	0,0067	0,0134	0,0077	0,0099	0,5421	0,1240	0,4354

APÊNDICE B - PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS - GRUPO BASAL

BASAL	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Cálcio Plasm.
	75,2	0,7176	0,0362	0,0094	125,7	146,00	10,22
	90,1	0,9563	0,0468	0,0135	107,3	146,32	9,95
	60,5	0,6594	0,0291	0,0078	128,2	117,52	11,30
	80,7	0,6773	0,0338	0,0096	154,9	158,29	9,51
	73,4	0,8991	0,0385	0,0098	89,5	166,36	10,55
	77,3	0,7394	0,0357	0,0101	129,4	147,90	10,23
	79,0	0,904	0,0379	0,007	100,9	136,39	9,54
	66,0	0,7451	0,0275	0,0051	111,4	132,16	10,40
	72,0	0,8593	0,0366	0,0071	96,42	151,75	10,23
n	9	9	9	9	9	9	9
MED	74,91	0,7953	0,0358	0,0088	115,97	144,74	10,21
DP	8,5482	0,1099	0,0056	0,0024	20,452	14,50	0,5411
EPM	2,8494	0,0366	0,0019	0,0008	6,8172	4,83	0,1804

APÊNDICE C - PARÂMETROS BIOMÉTRICOS - GRUPO INTACTO

INTACTO	(g)	(g)	(g)	(cm)	(cm)	(cm)
	Pinicial	Pfinal	Δ PC	comp.	Diâm. >	Diâm. <
	283	308	25	37,55	4,70	3,30
	249	264	15	34,75	4,00	2,80
	258	299	41	37,25	4,30	3,15
	278	300	22	37,00	4,25	3,00
	249	277	28	35,00	4,00	2,75
	229	241	12	35,20	3,85	2,70
	245	268	23	35,50	4,00	3,00
	232	251	19	35,40	4,00	2,80
n	8	8	8	8	8	8
MED	252,88	276,00	23,13	35,96	4,1375	2,9375
DP	19,504	24,460	8,90	1,119	0,271	0,212
EPM	6,896	8,648	3,15	0,3956	0,0958	0,0749

APÊNDICE D - PARÂMETROS FÍSICOS - GRUPO INTACTO

INTACTO	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
	P.cinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
	0,4241	0,6170	1,5723	0,6874	38,1713	18,1115	43,7171
	0,3034	0,4560	1,5535	0,6654	38,0858	19,0853	42,8289
	0,3666	0,5466	1,5587	0,6707	38,5563	18,4155	43,0282
	0,3865	0,5307	1,6050	0,7283	36,1118	18,5137	45,3745
	0,3057	0,4392	1,5806	0,6960	36,9778	18,9859	44,0363
	0,2890	0,4219	1,5710	0,6850	38,2770	18,1201	43,6029
	0,3278	0,4683	1,5842	0,7000	36,8783	18,9379	44,1839
	0,2874	0,4526	1,5296	0,6350	40,7916	17,6946	41,5138
n	8	8	8	8	8	8	8
MED	0,3363	0,4915	1,5694	0,6835	37,9812	18,4831	43,5357
DP	0,051	0,067	0,023	0,028	1,418	0,496	1,130
EPM	0,0179	0,0236	0,0080	0,0097	0,5015	0,1752	0,3994

APÊNDICE E - PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS - GRUPO INTACTO

Intacto	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Ca Plasm.
	104,4	0,7325	0,0500	0,0123	204,20	205,05	9,49
	76,5	0,6625	0,0335	0,0069	160,60	133,28	9,18
	92,6	0,6495	0,0414	0,0078	201,20	205,24	9,32
	97,2	0,6980	0,0395	0,0114	177,80	164,25	9,21
	76,1	0,8088	0,0356	0,0068	119,80	156,20	9,15
	76,0	0,5721	0,0252	0,0067	150,50	148,27	9,95
	82,0	0,6962	0,0370	0,0073	159,50	193,89	9,00
	77,4	0,6338	0,0318	0,0060	168,60	153,35	8,82
n	8	8	8	8	8	8	8
MED	85,28	0,6817	0,0368	0,0082	167,78	169,94	9,26
DP	11,222	0,071	0,007	0,002	27,426	27,68	0,3413
EPM	3,9677	0,0250	0,0026	0,0008	9,70	9,79	0,1207

APÊNDICE F - PARÂMETROS BIOMÉTRICOS - GRUPO CASTRADO

CASTRADO	(g)	(g)	(g)	(cm)	(cm)	(cm)
	Pinicial	Pfinal	Δ PC	comp.	Diâm. >	Diâm. <
	241	287	46	36,85	5,75	3,00
	236	289	53	36,00	3,85	2,75
	237	300	63	36,75	4,00	3,00
	235	308	73	36,15	4,00	2,75
	234	320	86	36,70	3,95	2,75
	236	303	67	36,30	3,90	2,70
	236	300	64	37,40	4,05	2,95
n	7	7	7	7	7	7
MED	236,43	301,00	64,57	36,593	4,2143	2,843
DP	2,2254	11,225	13,02	0,4808	0,6805	0,1336
EPM	0,8411	4,2426	4,92	0,1817	0,2572	0,0505

APÊNDICE G - PARÂMETROS FÍSICOS - GRUPO CASTRADO

CASTRADO	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
	P.cinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
	0,2622	0,4646	1,4768	0,5644	44,3813	17,4027	38,2160
	0,2939	0,4777	1,5158	0,6152	40,4640	18,9477	40,5883
	0,2755	0,4493	1,5139	0,6132	41,1791	18,3181	40,5028
	0,2948	0,5098	1,4872	0,5783	42,5613	18,5571	38,8816
	0,3074	0,4628	1,5540	0,6642	39,1685	18,0895	42,7419
	0,2891	0,4544	1,5310	0,6362	39,5429	18,9018	41,5553
	0,3112	0,5227	1,4951	0,5954	40,2815	19,8976	39,8209
n	7	7	7	7	7	7	7
MED	0,2906	0,4773	1,5106	0,6095	41,0827	18,5878	40,3295
DP	0,0172	0,0283	0,0267	0,0341	1,8319	0,7821	1,5406
EPM	0,0065	0,0107	0,0101	0,0129	0,6924	0,2956	0,5823

APÊNDICE H - PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS - GRUPO CASTRADO

CASTRADO	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Ca Plasm.
	80,0	0,5881	0,0250	0,0095	144,10	148,97	9,17
	74,9	0,7704	0,0343	0,0078	121,30	155,89	9,20
	79,8	0,7153	0,0377	0,0131	143,70	151,30	9,69
	83,9	0,7289	0,0336	0,0093	134,50	148,43	9,89
	85,5	0,7117	0,0352	0,0063	143,70	166,49	8,99
	76,6	0,7074	0,0309	0,0102	136,80	151,36	9,01
	88,1	0,7137	0,0382	0,0089	158,60	168,52	9,64
n	7	7	7	7	7	7	7
MED	81,26	0,7051	0,0336	0,0093	140,39	155,85	9,37
DP	4,789	0,0559	0,0045	0,0021	11,40	8,33	0,3615
EPM	1,8101	0,0211	0,0017	0,0008	4,3075	3,15	0,1366

APÊNDICE I - PARÂMETROS BIOMÉTRICOS - GRUPO TRATADO / 6 SEMANAS

TRAT / 6 SEM.	(g)	(g)	(g)	(mm)	(mm)	(mm)
	Pinicial	Pfinal	Δ PC	comp.	Diâm. >	Diâm. <
	253	320	67	36,85	4,25	3,00
	254	326	72	36,85	4,10	3,00
	255	322	67	37,15	4,20	3,00
	232	295	63	36,00	4,10	2,75
	243	298	55	37,05	4,00	2,85
	226	309	83	36,35	3,75	2,95
	244	313	69	36,70	4,00	2,80
	252	303	51	37,15	4,00	2,85
	249	301	52	36,30	3,90	2,80
n	9	9	9	9	9	9
MED	245,33	309,67	64,33	36,71	4,033	2,8889
DP	10,271	11,225	10,38	0,4099	0,1521	0,0993
EPM	3,4238	3,7417	3,46	0,1366	0,0507	0,0331

APÊNDICE J - PARÂMETROS FÍSICOS - GRUPO TRATADO / 6 SEMANAS

TRAT / 6 SEM.	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
	Pcinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
	0,3234	0,4956	1,5486	0,6525	39,1401	18,7231	42,1368
	0,3201	0,4850	1,5532	0,6600	38,8159	18,6911	42,4930
	0,3303	0,5060	1,5457	0,6528	39,2277	18,5398	42,2325
	0,2721	0,4241	1,5378	0,6416	39,0678	19,2119	41,7203
	0,2984	0,4667	1,5357	0,6394	39,6540	18,7108	41,6353
	0,2981	0,4748	1,5257	0,6278	40,8752	17,9735	41,1513
	0,2823	0,4602	1,5130	0,6134	40,0546	19,4026	40,5429
	0,3104	0,4861	1,5334	0,6386	39,3882	18,9697	41,6421
	0,2703	0,4370	1,5176	0,6185	40,8776	18,3655	40,7569
n	9	9	9	9	9	9	9
MED	0,3006	0,4706	1,5345	0,6383	39,678	18,732	41,590
DP	0,0222	0,0268	0,0137	0,0159	0,7670	0,4309	0,6644
EPM	0,0074	0,0089	0,0046	0,0053	0,2557	0,1436	0,2215

APÊNDICE K - PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS - GRUPO TRATADO / 6 SEMANAS

Trat/ 6 sem.	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Cálcio plasm.
	86,2	0,7553	0,0457	0,009	189	124,87	9,04
	85,4	0,6933	0,0389	0,0069	181,8	126,39	8,45
	95,2	0,6255	0,0505	0,0104	173,4	148,58	9,07
	74,2	0,5911	0,0277	0,0065	148,3	153,79	8,92
	0,0	1,4	0	0	0	160,39	8,45
	87,9	0,5942	0,0345	0,0075	164,7	160,03	8,69
	74,6	0,5236	0,0229	0,0066	148,5	148,73	9,19
	82,7	0,5598	0,0373	0,0075	161,3	178,60	8,77
	76,3	0,6594	0,0291	0,0078	128,2	139,01	9,25
n	9	9	9	9	9	9	9
MED	73,611	0,7114	0,0318	0,0069	143,91	148,9	8,8719
DP	28,455	0,2676	0,0148	0,0029	57,09	17,12	0,2976
EPM	9,4850	0,0892	0,0049	0,0010	19,03	5,7059	0,0992

APÊNDICE L - PARÂMETROS BIOMÉTRICOS - GRUPO TRATADO / 8 SEMANAS

TRAT / 8 SEM.	(g)	(g)	(g)	(mm)	(mm)	(mm)
	Pinicia I	Pfinal	Δ PC	comp.	Diâm. >	Diâm. <
	241	259	18	33,45	3,95	3,00
	258	294	36	34,90	4,00	3,10
	232	265	33	34,80	3,95	2,95
	251	283	32	35,35	3,75	2,70
	264	272	8	36,25	3,75	3,00
	245	273	28	35,35	4,00	3,00
	257	315	58	36,35	4,15	3,00
	225	291	66	36,40	4,25	3,00
n	8	8	8	8	8	8
MED	246,63	281,50	34,88	35,356	3,9750	2,9688
DP	13,490	18,174	19,16	1,0019	0,1732	0,1163
EPM	4,7695	6,4254	6,78	0,3542	0,0612	0,0411

APÊNDICE M - PARÂMETROS FÍSICOS - GRUPO TRATADO / 8 SEMANAS

TRAT / 8 SEM.	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
	Pcinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
	0,2466	0,4179	1,4965	0,5901	41,8612	18,7080	39,4308
	0,2825	0,4555	1,5192	0,6202	41,6908	17,4855	40,8237
	0,2650	0,4516	1,4887	0,5868	39,9078	20,6753	39,4169
	0,2874	0,4197	1,5726	0,6848	37,3485	19,1061	43,5455
	0,2899	0,4685	1,5187	0,6188	40,3092	18,9459	40,7449
	0,2651	0,4401	1,5035	0,6024	41,1516	18,7849	40,0635
	0,2931	0,4966	1,4944	0,5902	42,2450	18,2590	39,4960
	0,3194	0,5141	1,5213	0,6213	41,0306	18,1307	40,8388
n	8	8	8	8	8	8	8
MED	0,2811	0,4580	1,5144	0,6143	40,693	18,762	40,545
DP	0,0222	0,0342	0,0266	0,0319	1,5603	0,9333	1,3655
EPM	0,0078	0,0121	0,0094	0,0113	0,5517	0,3300	0,4828

APÊNDICE N - PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS - GRUPO TRATADO / 8 SEMANAS

Trat/ 8 sem.	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Cálcio Plasm.
	84,6	0,7101	0,0359	0,0069	172,40	134,30	9,23
	79,7	0,8294	0,0384	0,0073	121,80	151,56	8,34
	75,1	0,7286	0,0283	0,0059	117,40	132,66	9,73
	73,7	0,7686	0,0341	0,0089	122,80	153,82	9,07
	77,7	0,6908	0,0303	0,0091	131,80	174,04	8,12
	76,0	0,6714	0,0329	0,009	159,40	117,47	8,14
	72,7	0,5465	0,0376	0,0104	141,70	150,39	8,91
	86,1	0,6844	0,0374	0,0078	169,40	168,49	9,62
n	8	8	8	8	8	8	8
MED	78,200	0,7037	0,0344	0,0082	142,09	147,84	8,8955
DP	4,9399	0,0819	0,0037	0,0015	22,244	18,92	0,6360
EPM	1,7465	0,0290	0,0013	0,0005	7,8645	6,69	0,2249

 APÊNDICE O – PROBABILIDADE DO TESTE ESTATÍSTICO APLICADO AOS PARÂMETROS BIOMÉTRICOS

	(g)	(g)	(g)	(mm)	(mm)	(mm)
Grupos	P Inicial	P final	Δ PC	Comp.	Diâm. >	Diâm. <
Entre todos os grupos	0,2759	0,0011	0,0001	0,0001	0,0477	0,1104
Basal x Intacto	0,6730	-	-	0,0016	0,0003	0,2766
Basal x Castrado	0,0712	-	-	0,0002	0,0012	0,9999
Basal x Tratado / 6 semanas	0,9999	-	-	0,0001	0,0012	0,0770
Basal x Tratado / 8 semanas	0,9626	-	-	0,0152	0,0152	0,0206
Intacto x Castrado	0,1206	0,0401	0,0003	0,3357	0,4634	0,3357
Intacto x Tratado / 6 semanas	0,5414	0,0055	0,0001	0,2766	0,6058	0,8884
Intacto x Tratado / 8 semanas	0,6454	0,7209	0,1605	0,3823	0,1605	0,7209
Castrado x Tratado / 6 semanas	0,0712	0,1738	0,9999	0,4698	0,5360	0,3510
Castrado x Tratado / 8 semanas	0,1206	0,0401	0,0093	0,0205	0,7789	0,1206
Tratado / 6 semanas x Tratado / 8 semanas	0,7430	0,0025	0,0037	0,0025	0,4234	0,1388

 APÊNDICE P – PROBABILIDADE DO TESTE ESTATÍSTICO APLICADO AOS PARÂMETROS FÍSICOS

	(g)	(g/cm ³)	(g/cm ³)	(g/cm ³)			
Grupos	Pcinzas	VO	DO	DM	% Água	%MO	% MM
Entre todos os grupos	0,0024	0,1175	0,0001	0,0001	0,0017	0,0600	0,0001
Basal x Intacto	0,0055	0,1996	0,0274	0,0111	0,0079	0,0464	0,0111
Basal x Castrado	0,2991	0,1142	0,0549	0,0712	0,4079	0,0712	0,0907
Basal x Tratado / 6 semanas	0,0625	0,0503	0,7962	0,8633	0,3865	0,0012	0,8633
Basal x Tratado / 8 semanas	0,8884	0,4807	0,0592	0,0745	0,5414	0,0360	0,0745
Intacto x Castrado	0,1206	0,9999	0,0022	0,0012	0,0037	0,9999	0,0012
Intacto x Tratado / 6 semanas	0,1672	0,9626	0,0025	0,0025	0,0037	0,3704	0,0025
Intacto x Tratado / 8 semanas	0,0104	0,3282	0,0030	0,0011	0,0070	0,5737	0,0011
Castrado x Tratado / 6 semanas	0,3510	0,9182	0,0712	0,0549	0,0712	0,6065	0,0549
Castrado x Tratado / 8 semanas	0,3357	0,2810	0,6943	0,7789	0,9999	0,7789	0,7789
Tratado / 6 semanas x Tratado / 8 semanas	0,0927	0,4234	0,0464	0,0464	0,0360	0,8884	0,0360

APÊNDICE Q – PROBABILIDADE DO TESTE ESTATÍSTICO APLICADO AOS PARÂMETROS BIOMECÂNICOS E QUÍMICOS

	(N)	(cm)	(J)	Mpa	(N/cm)	(mg/ml)	(mg/dl)
Grupos	Fmáx.	D.Máx	Resil.	Tenac.	Rig.	Cálcio Total	Cálcio Plasm.
Entre todos os grupos	0,5212	0,5437	0,7821	0,3050	0,0490	0,0651	0,0001
Basal x Intacto	0,0592	0,0274	0,8884	0,3704	0,0016	0,0464	0,0003
Basal x Castrado	0,1142	0,1142	0,4079	0,8371	0,0164	0,0712	0,0052
Basal x Tratado / 6 semanas	0,2581	0,0315	0,7304	0,1615	0,0142	0,4894	0,0001
Basal x Tratado / 8 semanas	0,4234	0,1388	0,6730	0,4807	0,0360	0,6730	0,0010
Intacto x Castrado	0,8665	0,2810	0,3969	0,2319	0,0205	0,4634	0,7789
Intacto x Tratado / 6 semanas	0,4807	0,3213	0,6058	0,8148	0,4807	0,1672	0,0360
Intacto x Tratado / 8 semanas	0,1605	0,5054	0,5737	0,5737	0,1049	0,1605	0,3282
Castrado x Tratado / 6 semanas	0,8371	0,1738	0,9999	0,0907	0,0907	0,4079	0,0311
Castrado x Tratado / 8 semanas	0,2319	0,6128	0,9551	0,2810	0,9551	0,6126	0,1893
Tratado / 6 semanas x Tratado / 8 semanas	0,4234	0,2359	0,8884	0,3704	0,2359	0,9999	0,9626

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)