

# Propriedades mecânicas de fêmures de ratos submetidos à hipocinesia dos membros pélvicos e a diferentes programas de reabilitação

## *Mechanical properties of femurs of rats subjected following pelvic members immobilization and different rehabilitation programs*

Adelton Andrade Barbosa<sup>1</sup>, Ricardo Junqueira Del Carlo<sup>2</sup>, Antônio José Natali<sup>3</sup>, Marcelo José Vilela<sup>4</sup>, Simone Rezende Galvão<sup>5</sup>, Mário Jefferson Quirino Louzada<sup>6</sup>, Ana Flora Souza Brito<sup>7</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar por meio da densitometria óssea e do ensaio mecânico, a influencia da hipocinesia e posterior atividade em esteira ou movimentação livre em fêmures de ratos.

**Métodos:** Foram utilizados 64 ratos Wistar com 65 dias de idade e massa corporal média de 316,11 gramas, separados aleatoriamente em oito grupos, sendo três controles e cinco experimentais. Os animais do grupo 6 foram criados até completarem 93 dias de idade e serviram de controle para grupo 1, composto por ratos suspensos pela cauda por 28 dias. No grupo 7, os animais foram criados até 121 dias e foram controle para os grupos grupo 2 (suspenso e treinado em esteira por 4 semanas) e grupo 4 (suspenso e liberado por 4 semanas). No grupo 8, os animais foram criados até 149 dias e foram controle para os grupos 3 (suspenso e treinado em esteira por 8 semanas) e 5 (suspenso e liberado por 8 semanas). Dentre as propriedades mecânicas do terço médio do fêmur foram analisadas a força máxima de ruptura e a rigidez. **Resultados:** A suspensão pela cauda provocou diminuição na força máxima admitida e na rigidez. **Conclusão:** O treinamento em esteira e a atividade livre na caixa após a suspensão promoveram aumento na rigidez óssea e na força necessária para produzir fratura de forma semelhante e ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** Condicionamento Físico Animal; Regeneração Óssea; Osteogênese Imperfeita.

### ABSTRACT

**Objective:** Evaluate, using bone densitometry and mechanical testing, the influence of hypokinesia and subsequent activity on a treadmill or free movement in femurs of rats.

**Methods:** Sixty-four Wistar rats were used. The animals were created until the age of sixty-five days for the beginning of the procedures experimental. They were divided into eight groups, being three control and five experimental. The animals in group 6 (G6), were created until completing 93 days of age and served as a control for G1, which was to suspend the animal by the tail for 28 days. In G7, the animals were created until 121 days and were for the control groups, G2 (suspended and trained on a treadmill for 4 weeks) and G4 (suspended and released for 4 weeks. Already in the G8, the animals were created until 149 days and were for the control groups, G3 (suspended and trained on a treadmill for 8 weeks) and G5 (suspended and released for 8 weeks). We analyzed the mechanical properties of the middle third of the femur (maximum force necessary to break and stiffness). **Results:** The suspension by the tail caused a decrease in maximum strength and rigidity of the femur of animals. **Conclusion:** The training on a treadmill and free activity after suspension promoted increased bone stiffness and strength required to produce fracture in a similar way and over time.

**Key words:** Physical Conditioning, Animal; Bone Regeneration; Osteogenesis Imperfecta.

<sup>1</sup> Fisioterapeuta, Mestre. Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG) – Casa de Saúde Padre Damiano. Ubá, MG – Brasil.

<sup>2</sup> Veterinário, Doutor. Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG – Brasil.

<sup>3</sup> Bacharel em Educação Física, Ph.D.

Departamento de Educação Física,

Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG – Brasil.

<sup>4</sup> In memoriam

<sup>5</sup> Veterinária, Mestre. Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG – Brasil.

<sup>6</sup> Engenheiro Elétrico, Ph.D. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Curso de Medicina Veterinária. Aracatuba, SP – Brasil.

<sup>7</sup> Veterinária, Mestre. Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG – Brasil.

Instituição:

Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG – Brasil.

Endereço para correspondência:

Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário Viçosa, MG – Brasil  
CEP: 36570-000

## INTRODUÇÃO

O apoio de carga ou peso e a contração muscular são duas forças que desempenham papel importante na modelagem do osso. O exercício ativo pode aumentar ou diminuir o peso, o comprimento e a densidade óssea, dependendo da idade da pessoa e da intensidade do exercício.<sup>1</sup>

A imobilização permite a reabsorção óssea e deprime a formação óssea (especialmente no osso trabecular), resultando em osteoporose, isto é, a massa óssea diminui em relação ao seu volume com alteração simultânea no material e propriedades geométricas do osso.<sup>2</sup> Desta forma, mesmo por curtos períodos de atividade física diminuída, pode ocorrer enfraquecimento ósseo, devido aos rápidos efeitos da ausência de carga no esqueleto.<sup>3</sup>

No início da imobilização, a diminuição da solicitação mecânica resulta em formação óssea diminuída e deixa a atividade de reabsorção óssea, temporariamente, sem oposição da deposição.<sup>4</sup>

O treinamento físico é a contramedida mais estudada como forma de tratamento e prevenção da perda óssea e atrofia muscular. Estudos em animais com treinamentos em esteiras demonstraram que houve aumento da massa óssea e da densidade mineral óssea.<sup>5,6</sup>

Os efeitos dos exercícios sobre o sistema esquelético dependem de fatores como intensidade do exercício, maturidade esquelética, tipo de osso (cortical e trabecular) e localização anatômica (diáfise, metáfise ou epífise).<sup>7</sup>

A determinação das propriedades mecânicas de um material é realizada por meio de ensaios que podem ser destrutivos, quando promovem a ruptura e/ou a inutilização do material, ou não destrutivo. A escolha do ensaio mecânico mais adequado depende da finalidade do material, dos tipos de força que ele sofrerá e das propriedades mecânicas que se deseja medir.<sup>8</sup>

O objetivo deste estudo foi analisar a força máxima admitida no terço médio do fêmur de ratos e a rigidez, após um período de submissão à hipocinesia dos membros pélvicos e após realização de diferentes períodos de reabilitação com corrida em esteira ou movimentação livre em caixa.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 64 ratos, com idade de 65 dias. Quatro animais morreram durante o período de suspensão e hipocinesia, e três foram excluídos por não

se adaptarem ao protocolo de treinamento, desta forma o experimento foi conduzido com 57 animais.

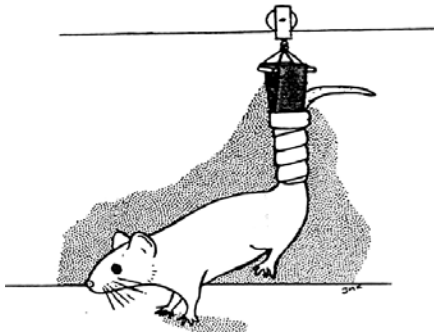
Os animais foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos experimentais: Grupo 1, controle suspenso, constituído de 7 animais que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias e posteriormente sofreram eutanásia; Grupos 2 e 3 Suspensos Treinados, compostos por 7 e 5 animais respectivamente, que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias, e posterior regime de exercício em esteira por mais 28 dias (grupo 2) e 56 dias (grupo 3) e posteriormente sofreram eutanásia; Grupos 4 e 5 Suspensos Liberados, compostos por 7 animais que permaneceram em regime de hipocinesia dos membros pélvicos por 28 dias e, posteriormente, alojados com livre movimentação em caixa por 28 dias (grupo 4) e 56 dias (grupo 5) e depois sofreram eutanásia; Grupos 6, 7 e 8, Controles Negativos, compostos por 8 animais, alojados com movimentação livre em caixa, submetidos a eutanásia com 93 dias de idade, 121 dias de idade e 149 dias de idade, respectivamente.

Os animais dos grupos 1 a 5 foram suspensos pela cauda, e todos os procedimentos para suspensão do animal foram baseados no trabalho de Shimano (2006), com pequenas modificações.

Os ratos foram anestesiados, a cauda lavada com água e detergente, e após secagem completa, foi aplicada tintura de benjoim em toda pele. Em seguida, a cauda foi envolvida com espuma adesiva, desde sua origem até os dois terços proximais, sobre esta espuma foi colocada uma bandagem elástica, de modo a envolver toda espuma. Sobre o envoltório da tira elástica foi colocado um cadarço sarjado de modo a formar uma alça que serviu para prender o animal ao sistema de suspensão, por meio de uma presilha. A seguir, a extremidade da cauda do animal não enfaixada foi amputada, para evitar necrose.

O sistema de suspensão foi adaptado em duas estantes com três prateleiras. Em cada prateleira foram suspensos 8 animais com espaço de movimentação delimitado. A estrutura da estante permitiu aos animais movimentação com os membros torácicos com apoio no assoalho da prateleira, porém, mantendo os membros pélvicos suspensos (Figura 1). Os animais somente foram suspensos após o retorno anestésico.

No assoalho da prateleira foi colocada maravalha e a higienização foi feita diariamente. Neste sistema os animais tiveram livre acesso à água e ração.



**Figura 1** - Modelo de suspensão pela cauda. Adaptado de Shimano (2006).

Os animais dos grupos 6, 7 e 8 permaneceram em caixas de polipropileno, próprias para ratos, nas dimensões de 49 x 34 x 16 cm, sem atividade física programada, apenas com deambulação livre.

Os animais dos grupos 2 e 3 foram treinados para caminhar em uma esteira motorizada (Insight, modelo EP-131), composta por 6 baias individuais, com altura de 15 cm, largura interna de 10 cm e comprimento de 50 cm.

Para o treinamento físico foi utilizado o protocolo proposto por Veras-Silva (1997) com pequenas alterações. O período de treinamento foi iniciado no dia seguinte à retirada da suspensão. Os animais correram 10 minutos por dia, aos quais foram acrescentados 5 minutos a cada dia, até 60 minutos de treinamento diário na velocidade de 10m/min. Este aumento progressivo no tempo de treinamento permitiu a adaptação do animal ao exercício. A velocidade da esteira a partir da terceira semana foi de 14m/min, na posição horizontal sem inclinação, caracterizando exercício de baixa intensidade. O grupo 2 foi submetido a este protocolo durante 28 dias e o grupo 3 por 56 dias. A cada semana os ratos foram treinados por 5 dias consecutivos e tiveram dois dias de repouso.

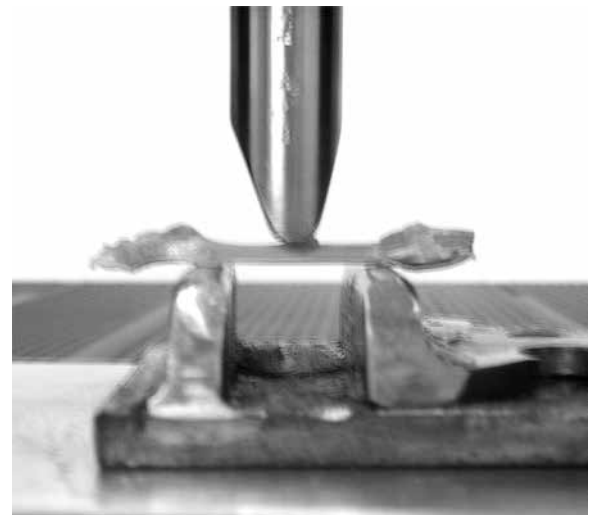
Após o período de experimento, os animais foram submetidos à eutanásia em câmara de CO<sub>2</sub>. Os fêmures esquerdos foram retirados, limpos das partes moles, identificados, envolvidos em gaze umedecida em solução fisiológica e conservados em freezer a -20°C. As carcaças foram incineradas.

Para o ensaio mecânico, os ossos foram retirados do freezer e mantidos em refrigerador comum por 24 horas. Em seguida, permaneceram em temperatura ambiente, até atingir equilíbrio térmico, quando foram analisados.

O ensaio mecânico foi realizado em máquina universal de ensaio EMIC®, modelo DL 3000\*, com carga aplicada a uma velocidade de 5 mm/min.

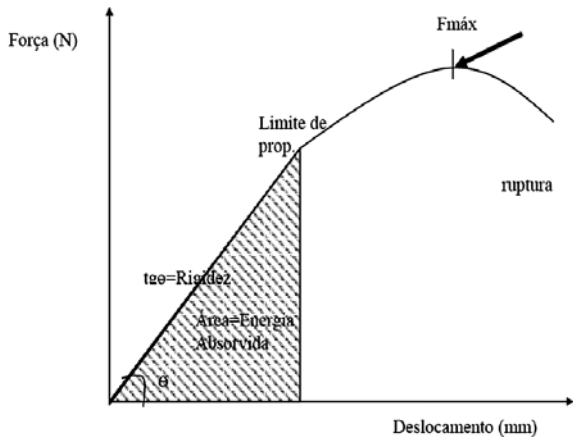
O registro de força e deslocamento foi realizado pelo sistema computacional pertencente à máquina, sendo possível controlar todos os parâmetros dos ensaios e obter o valor da força referente a cada deslocamento.

Foram utilizados ensaios de flexão simples em três pontos que permitiram testar o corpo de prova. O ensaio consistiu em apoiar o corpo de prova sob dois suportes distanciados entre si a uma distância L, sendo a carga de dobramento ou flexão aplicada no centro do corpo de prova (a uma distância L/2 de cada apoio, (Figura 2)). A distância de vão de apoio foi de 20 mm e a célula de carga utilizada foi de 2000N. A cada incremento de carga aplicada ao material foi anotada a deflexão correspondente, para depois, ser construído o gráfico carga x deflexão, a partir do qual pode-se obter força máxima e rigidez, sendo: força máxima (F<sub>máx</sub>) o maior valor de força observada no ensaio mecânico e rigidez a deformação observada no corpo, em resposta à força aplicada. Quanto maior a rigidez menor a deformação resultante da aplicação de uma tensão e foi obtida através da inclinação da curva força versus deformação na fase elástica da curva (Figura 3).



**Figura 2** - Ensaio mecânico de flexão, em três pontos, no corpo de prova fêmur de rato.

O programa de computador da máquina emitiu um arquivo de extensão.txt para cada ensaio. Este arquivo continha todos os pontos adquiridos durante os ensaios [tempo (s) x deslocamento (mm) x força (N)]. Com estes pontos e o programa de computador Excel® foi possível construir os gráficos e calcular as propriedades mecânicas.



**Figura 3** - Desenho esquemático da curva característica, Força x Deslocamento, obtida no ensaio de flexão de três pontos na máquina universal de ensaios EMIC®.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov), e após aplicou-se análise de variância (ANOVA one-way para análises do fator tempo e tempo de exercício e seu controle), teste t student para análises entre 2 grupos independentes (fatores suspensão e exercício) e testes de correlação de Pearson para determinar a relação entre variáveis. Para as análises de múltiplas comparações *post hoc* foi utilizado o teste de Tukey em análises paramétricas e Dunn's em análises não-paramétricas. Os cálculos estatísticos foram realizados no software Sigma Stat 3.0 [SPSS], empregando o nível de significância estatística de  $P < 0,05$ .

A metodologia utilizada no presente estudo foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados oriundos dessa pesquisa podem ser úteis para determinar medidas de prevenção ou tratamento da osteopenia, para pacientes com osteoporose ou ainda para aqueles que necessitam permanecer acamados por longos períodos. Também podem auxiliar a instituir medidas terapêuticas de reabilitação adequadas nos casos de enfraquecimento ósseo provocado pela inatividade.

O rato foi escolhido como animal experimental pela facilidade de sua manutenção em laboratório, pelo baixo custo e, principalmente pela possibilidade de simular o sub-carregamento. E também pode ser aceito como modelo para estudos, respeitando-se

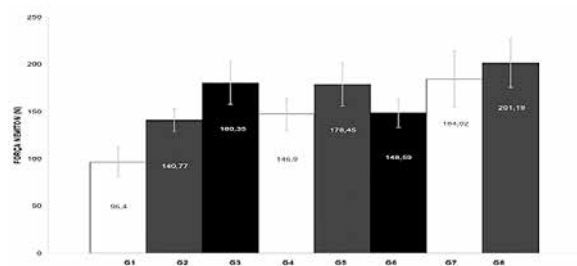
diferenças entre o comportamento dos tecidos dos ratos e dos outros animais.<sup>11</sup>

Para os resultados finais foram considerados todos os animais que não apresentaram problemas durante os procedimentos experimentais. Destes, a ruptura da cauda durante a suspensão foi observada em um animal de cada um dos grupos 1, 2, 4 e 5, e três animais do grupo 3 não conseguiram se adaptar ao protocolo de treinamento.

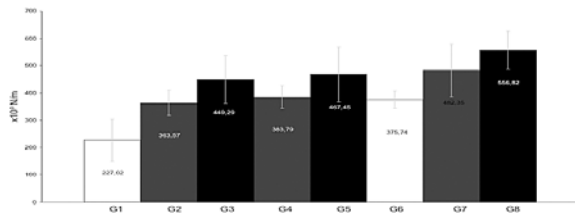
O treinamento em esteira é um exercício físico muito estudado para recuperação estrutural do sistema músculo-esquelético.<sup>5,11</sup> Existem vários estudos com diferentes protocolos de exercício em esteira, mas foi seguido o protocolo utilizado por Gava (1995), com pequenas modificações, caracterizando um exercício de baixa intensidade<sup>10</sup>, cujo uso pode ser justificado pelo período de hipocinesia dos membros pélvicos, com os animais apresentando perda de massa muscular e alterações na arquitetura óssea, contra-indicando o uso de atividade com intensidade moderada ou alta. Também, o treinamento utilizado preconiza exercício seguido de descanso evitando fadiga muscular e danos relacionados com o excesso de treinamento.

Além da intensidade, os efeitos dos exercícios sobre o sistema esquelético variam de acordo com a maturidade esquelética e tipo de localização anatômica do osso.<sup>7</sup> Outro fato que deve ser considerado no modelo utilizado é que os animais podem realizar contrações dinâmicas, porém com carga mínima e as alterações podem ser observadas nos músculos e nos ossos de acordo com o tempo de exposição a essas situações.<sup>13</sup>

Os resultados do ensaio mecânico para análise da força máxima e rigidez admitida no terço médio do fêmur esquerdo dos ratos, por meio de ensaios de flexão simples em três pontos, estão representados nas figuras 4 e 5, respectivamente.



**Figura 4** - Força máxima admitida obtida após ensaio mecânico do fêmur esquerdo dos animais dos diversos grupos experimentais.



**Figura 5** - Rigidez do fêmur esquerdo dos ratos dos diversos grupos experimentais, obtida após ensaio mecânico.

Na análise dos efeitos da suspensão sobre a força máxima admitida e rigidez, ao se comparar os grupos suspensos (G1, G4 e G5) com os respectivos grupos controle não suspensos (G6, G7 e G8), foram verificadas diferenças pelo Teste de Mann-Whitney para G1 x G6 ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ , respectivamente) e pelo Teste t-student para G4 x G7 ( $p = 0,008$  e  $p = 0,027$ , respectivamente). Isto demonstra que a suspensão pela cauda provocou maior fragilidade óssea, quando comparado com os grupos não suspensos. As alterações na estrutura óssea, após 28 dias de suspensão, também foram observadas em diferentes modelos animais.<sup>14,15,16,9</sup> A comparação de G5 x G8 não demonstrou diferença pelo Teste t student para força máxima ( $p=0,219$ ) e rigidez ( $p=0,062$ ), permitindo inferir que a movimentação livre durante 8 semanas após um período de hipocinesia de 28 dias, promoveu a recuperação das propriedades ósseas estudadas. Ou seja, o período de 8 semanas de atividade livre na caixa permitiu a regulação do balanço osteogênico, que se encontrava alterado devido à suspensão.

Na análise do efeito do tempo de atividade em esteira (G2 e G3) e o grupo suspenso (G1), os cruzamentos entre G3 x G1, G3 x G2 e G2 x G1 evidenciaram diferenças para força máxima e rigidez pelo Teste de Tukey ( $p = 0,001$  e  $p = 0,001$ ;  $p = 0,003$  e  $p = 0,023$ ;  $p = 0,001$  e  $p = 0,006$ , respectivamente) reafirmando que períodos maiores de treinamento proporcionam melhores resultados na recuperação das propriedades ósseas, fato também encontrado por Yeh (1993).

Na análise do efeito do tempo de atividade livre (G5 e G4) e o grupo suspenso (G1), foram comparados os grupos G4 x G1, G5 x G1 e G5 x G4 pelo Teste de Tukey. A comparação entre os grupos G5 x G4 e G4 x G1, para os resultados de força máxima e rigidez, não apresentou diferença ( $p = 0,239$  e  $p = 0,130$ ;  $p = 0,178$  e  $p = 0,073$ , respectivamente), evidenciando que o período de 4 semanas foi insuficiente para a recuperação destas propriedades mecânicas. Estes resultados diferem dos obtidos por Frateschi (2002), que demonstrou que ratos imobilizados por 21 dias segui-

dos de atividade física e movimentação livre por 4 semanas recuperaram os valores das propriedades mecânicas. Essa diferença pode ser explicada pelo período menor de suspensão em relação ao período de reabilitação, pois o tempo para recuperação da resistência óssea é maior do que o tempo necessário para que ocorram mudanças osteopênicas.<sup>4</sup>

Quando comparados G5 x G1, evidencia-se que o tempo de exercício livre foi capaz de alterar favoravelmente os valores dos parâmetros estudados ( $p = 0,004$  e  $p = 0,027$ , respectivamente) inclusive tornando-os semelhantes ao grupo controle (G5 x G8). Pois a aplicação de forças mecânicas durante a atividade física representa um estímulo mecânico e causa pequenas deformações na arquitetura óssea, favorecendo a osteogênese. De outra forma, o decréscimo da atividade determina reabsorção do osso.<sup>18,19</sup>

Em analogia, a porosidade em materiais estruturais exerce uma forte influência em suas propriedades mecânicas.<sup>20</sup> Nos ossos acontecem de forma similar, sendo que a força e a rigidez variam inversamente com o aumento da porosidade, e de forma contrária, estas propriedades mecânicas melhoram quando a densidade óssea aumenta.<sup>21</sup>

Na análise do efeito do tempo sobre os grupos controle (G6, G7 e G8), foram comparados os grupos G8 x G6, G7 x G6 e G8 x G7 pelo Teste de Tukey. As diferenças das propriedades mecânicas para G8 x G6 e G7 x G6 ( $p = 0,002$  e  $p = 0,001$ ;  $p = 0,016$  e  $p = 0,018$ , respectivamente) sugerem, de acordo com Evans & Vincenelli (1969) e Souza (1974) que existem diferenças na composição microestrutural dos ossos de animais de diferentes faixas etárias e que existe um período de estabilização destas variáveis (força máxima e rigidez), o que pode justificar os resultados de G8 x G7 (Figuras 4 e 5) não terem apresentado diferença ( $p = 0,670$  e  $p = 0,116$ , respectivamente).

Na análise do efeito do exercício em esteira (G2 e G3) em relação à atividade livre na caixa (G4 e G5), a confrontação de G2 x G4 e G3 x G5 não evidencia diferença para força máxima e rigidez pelo Teste t student ( $p = 0,454$  e  $p = 0,403$ ;  $p = 0,333$  e  $p = 0,751$ , respectivamente) demonstrando que tanto a atividade em esteira quanto a movimentação livre na caixa promoveram a recuperação das propriedades ósseas estudadas de forma semelhante, estando de acordo com os achados de Vicentini (2006).

Considerando que carga máxima e rigidez são importantes propriedades que expressam o enfraquecimento do osso e maior risco de fraturas e que



estavam significativamente alteradas nos animais suspensos e, analisando em conjunto as propriedades mecânicas, verifica-se que houve melhora quando se compararam os grupos ao longo do tempo, o que indica aumento global da resistência óssea aos esforços aplicados, mostrando tanto a efetividade do sistema de suspensão em provocar o enfraquecimento do osso, quanto do exercício, livre ou em esteira, em promover a recuperação da qualidade do osso. Ou seja, os animais saíram do sistema de suspensão com o osso enfraquecido, o que é muito importante em termos do que fazer a seguir, no caso de se considerar pacientes submetidos a um processo de reabilitação em decorrência de imobilizações prolongadas. Nesse sentido, esses dados fornecem subsídios para serem testados programas ou técnicas de reabilitação.

## CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este experimento é possível concluir que o período de suspensão pela cauda diminui a rigidez óssea e a força necessária para produzir fratura. Conclui-se também que o treinamento em esteira e a atividade livre aumentam a rigidez óssea e a força máxima admitida no terço médio do fêmur, de forma semelhante e ao longo do tempo.

## REFERÊNCIAS

- Cornwall M. Biomechanics of noncontractile tissue. A review. *Phys Ther.* 1984; 63:1869-73.
- Minaire P. Immobilization osteoporosis: a review. *Clin Rheumatol.* 1989; 8:95-103.
- Maeda H, Kimmel DB, Raab DM, Lane NE. Musculoskeletal recovery following hindlimb immobilization in adult female rats. *Bone.* 1993; 4:153-9.
- Kannus P, Jozsa L, Renstrom P, *et al.* Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. *J Appl Physiol.* 1994; 84:1418-24.
- Vander WHE, Lips P, Graafmans WC, *et al.* Additional weight-bearing during exercise is more important than duration of exercise for anabolic stimulus of bone: a study of running exercise in female rats. *Bone.* 1995; 16(1):73-80.
- Mathey J, Orcajada MN, Chanteranne B, *et al.* Bone mass in obese diabetic Zucker rats: influence of treadmill running. *Calcif Tissue Int.* 2002; 70:305-11.
- Hou JCH, Salem GJ, Zernicke RF, Barnard RJ. Structural and mechanical adaptations of immature trabecular bone to strenuous exercise. *J Appl Physiol.* 1990; 69(4):1309-14.
- Souza SA. Ensaio de tração. In: Souza SA. Ensaio mecânicos de materiais metálicos. São Paulo: Edgard Blucher; 1974. p.3-58.
- Shimano MM. Microestruturas e propriedades mecânicas de osso cortical e trabecular de ratos, após período de suspensão pela cauda e exercitação [tese]. Ribeirão Preto-SP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP); 2006. 154f.
- Veras-Silva AC, Mattos KC, Gava NS, Brum PC, Negrão CD, Krieger EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol.* 1997; 273:H2627-31.
- Norman TL, Bradley PG, Clovis N, Cutlip G, Bryner RW. Aerobic Exercise as a countermeasure for microgravity-induced bone loss and muscle atrophy in a rat hindlimb suspension model. *Aviat Space Environ Med.* 2000; 71(6):593-8.
- Gava NS, Veras-Silva AC, Negrão CD, Krieger EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac  $\beta$ -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1995; 26:1129-33.
- Matsumoto T, Nakayama K, Kodama Y, Fuse H, Nakamura T, Fukumoto S. Effect of mechanical unloading and reloading on periosteal bone formation and gene expression in tail-suspended rapidly growing rats. *Bone.* 1998; 22(5):89-93.
- Carvalho CMM. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2001. 61f.
- Frateschi MEBJM. Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002. 59f.
- Guagneli RS. Propriedades mecânicas do osso esponjoso e cortical do rato, após período de imobilização por aparelho gessado ou suspensão pela cauda [dissertação]. Ribeirão Preto, SP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP); 2006. 70f.
- Yeh JK. Effect of treadmill exercise on vertebral and tibial bone mineral content and bone mineral density in the aged adult rat: Determined by dual energy X-ray absorptiometry. *Calcif Tissue Int.* 1993; 52:234-8.
- Turner RT. Mechanical signaling in the development of postmenopausal osteoporosis. *Lupus.* 1999; 8:388-92.
- Hart KJ, Shaw JM, Vajda E. Swim-trained rats have greater bone mass density strength and dynamics. *J Appl Physiol.* 2001; 91:1663-8.
- Brown SD, Biddulph RB, Wilcox PD. A strength porosity relation involving different pore geometry and orientation. *Am Ceram Soc J.* 1964; 47:320-23.
- Martin RB, Boardman DL. The effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bovine cortical bone bending properties. *J Biomech.* 1993; 26(9):1047-54.
- Evans FG, Vincenelli R. Relation of collagen fiber orientation to some mechanical properties of human cortical bone. *J Biomech.* 1969; 2:63-9.
- Vicentini CR. Análise densitométrica, histomorfométrica e biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira [dissertação]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2006. 82f.