JULIANA CRISTINA DOS REIS CANAAN

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBIO E RESISTIDO NA QUALIDADE DO OSSO ALVEOLAR EM MODELO DE OSTEOPENIA INDUZIDA POR OVARIECTOMIA E MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA

LAVRAS – MG
2026

JULIANA CRISTINA DOS REIS CANAAN

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBIO E RESISTIDO NA QUALIDADE DO OSSO ALVEOLAR EM MODELO DE OSTEOPENIA INDUZIDA POR OVARIECTOMIA E MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Luciano José Pereira
Orientador

Prof. Dr. Eric Francelino de Andrade
Coorientador

LAVRAS - MG
2026

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Canaan, Juliana Cristina dos Reis.
Efeitos dos treinamentos aeróbio e resistido na qualidade do osso alveolar em modelo de osteopenia induzida por ovariectomia e movimentação dentária / Juliana Cristina dos Reis Canaan. - 2026.
83 p. : il.

Orientador: Luciano José Pereira
Coorientador: Eric Francelino de Andrade

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Estudo pré-clínico. 2. Deficiência estrogênica. 3. Exercício físico. I. Pereira, Luciano José. II. Andrade, Eric Francelino de. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

JULIANA CRISTINA DOS REIS CANAAN

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBIO E RESISTIDO NA QUALIDADE DO OSSO ALVEOLAR EM MODELO DE OSTEOPENIA INDUZIDA POR OVARIECTOMIA E MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA

EFFECTS OF AEROBIC AND RESISTANCE TRAINING ON ALVEOLAR BONE QUALITY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF OVARIECTOMY-INDUCED OSTEOPENIA AND ORTHODONTIC TOOTH MOVEMENT

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 30 de março de 2026.

Prof. Dr. Rafael Neodini Remedio	UFLA
Prof. Dr. Leandro Silva Marques	UFVJM
Prof.ª Dr.ª Grazielle Caroline Da Silva	UNILAVRAS
Prof. Dr. Eric Francelino Andrade	UFLA

Prof. Dr. Luciano José Pereira
Orientador

gov.br Documento assinado digitalmente
LUCIANO JOSE PEREIRA
Data: 14/07/2026 17:16:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Eric Francelino de Andrade
Coorientador

LAVRAS - MG
2026

Aos meus filhos, Danton e Jolie,
amor, força e alegria de todos os meus dias.
Ao Marcelo,
inspiração e companheiro de jornada.
Aos meus pais,
por todo o amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste Doutorado representa o resultado de uma caminhada marcada por aprendizado, desafios e crescimento pessoal e profissional. Ao longo deste percurso, muitas pessoas contribuíram para que este trabalho se tornasse possível, e a todas elas expresso minha sincera gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Agradeço a Deus por sua imensa bondade, pela oportunidade de aprendizado e evolução profissional e por me conceder a esperança e a força necessárias nos momentos de dificuldade.

À Universidade Federal de Lavras, aos professores dos Departamentos de Ciências da Saúde e Medicina Veterinária, pela contribuição, ensinamentos e cooperação para a minha formação e o êxito da Pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de crescimento acadêmico e profissional e aos colaboradores, sempre dispostos a ajudar, minha sincera gratidão.

Agradeço, de maneira especial, ao meu orientador Prof. Dr. Luciano José Pereira, pela confiança, dedicação e pelos ensinamentos compartilhados ao longo desta trajetória. Gratidão pelo respeito, paciência e humanidade para comigo e minha família durante os momentos difíceis que passamos durante um período. Obrigada por ser esse exemplo de profissional.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Eric Francelino de Andrade, pela orientação, dedicação e constante busca pela excelência na ciência, apesar dos desafios enfrentados.

Aos meus amigos e parceiros de trabalho, Luciana e Pedro, que dividiram comigo os desafios do dia a dia da pesquisa, pelas trocas de conhecimento, pelo apoio e incentivo. A amizade que construímos e os momentos que passamos juntos tornaram esta jornada mais leve, divertida e significativa.

Agradeço a todos que, de diferentes formas, colaboraram para a execução dos experimentos. Expresso minha gratidão aos professores Soraia Macari, Ivam Junior, Natalia Bertolini, Rafael Remédio, Débora Galdino, Grazielle Caroline da Silva, Wilson Vicente Souza Pereira e Heloisa Santos, pelo apoio e pelas contribuições ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Aos técnicos e colegas, William, Eliete, Fabrício, Clara, Aline Chaves e Victor de Jesus, pela colaboração, parceria e auxílio durante as atividades experimentais.

Agradeço também a todas as colaborações dos laboratórios que permitiram desenvolver e finalizar este trabalho. O Laboratório Central de Biologia Molecular – LCBM, Laboratórios Integrados de Sanidade Animal e Saúde Coletiva – Lisasc e Laboratório Central de Pesquisa em Sementes – LCPS, professores responsáveis, técnicos e colaboradores.

À equipe do biotério do Departamento de Nutrição, em especial, às professoras Isabella Castro e Laura Pimenta, bem como ao técnico Geraldo Cândido, pelo suporte e pela dedicação.

À minha mãe, Nadir, pelo amor e apoio incondicional, durante todo o processo.

À minha família, irmãos, cunhadas, sobrinhos e tios, minha gratidão pelos conselhos, paciência, apoio e entendimento das ausências, nesse período de Doutorado.

Ao meu pai José João, in memoriam, por ser exemplo de caráter e dedicação ao trabalho.

À Maria Aparecida de Assis, querida "Cidinha", pelo amor e cuidado dedicados ao meu lar e, em especial, aos meus filhos, fornecendo-me tranquilidade para desempenhar as atividades relacionadas ao projeto.

Ao meu marido Marcelo, pelo companheirismo e apoio, durante todo o período, para que eu conseguisse finalizar este projeto.

E por fim, aos meus filhos Danton e Jolie pelo amor, bondade e aceitação de minhas ausências, durante a execução das atividades. Cada um com seu jeitinho especial faz meus dias melhores.

RESUMO

O aumento da longevidade tem sido acompanhado por condições associadas ao déficit de hormônios sexuais, incluindo alterações na homeostase e na integridade do tecido ósseo, favorecendo o desenvolvimento de osteopenia e osteoporose. Nesse contexto, intervenções não farmacológicas, como o exercício físico, têm sido amplamente investigadas por sua capacidade de modular a remodelação óssea. Entretanto os efeitos em sítios ósseos distantes da sobrecarga mecânica direta permanecem pouco esclarecidos. Assim, este estudo avaliou o impacto do treinamento aeróbio e resistido sobre a qualidade do osso alveolar, uma região não diretamente submetida à sobrecarga mecânica, na ausência e na presença de movimentação dentária ortodôntica (MDO), em um modelo de osteopenia induzida em camundongos fêmeas ovariectomizadas (OVX). Cinquenta e quatro camundongos fêmeas C57BL/6 foram submetidas à ovariectomia ou cirurgia simulada (SHAM) e, posteriormente, alocadas em três grupos experimentais, para cada tratamento cirúrgico (n=9/grupo), designados como não treinados, treinamento resistido (escalada em escada com carga) e treinamento aeróbio (esteira). Os protocolos de treinamento duraram oito semanas, com a MOD aplicada nos 14 dias finais. Foram realizadas análises da microarquitetura óssea e da movimentação dentária, da expressão de genes relacionados ao processo de remodelamento ósseo (RUNX2, RANKL e OPG) e da quantificação de osteoblastos, osteócitos e osteoclastos por microscopia de luz convencional. Também foi avaliado o peso corporal, o desempenho físico e o perfil inflamatório sistêmico por meio da razão entre os níveis séricos de IL-1β, IL-6, TNF-α e IL-10. Ambas as modalidades de exercício melhoraram os parâmetros ósseos em comparação com os animais OVX não treinados. O treinamento de resistência promoveu maiores aumentos na densidade mineral óssea, no volume ósseo e na fração de volume ósseo, enquanto o treinamento aeróbico reduziu a separação trabecular ($p<0,05$). A MDO foi significativamente atenuada por ambos os protocolos de treinamento, com a maior redução nos animais treinados aerobicamente, enquanto os camundongos OVX não treinados apresentaram o maior deslocamento dentário ($p<0,05$). Os animais OVX não treinados, particularmente aqueles submetidos à MDO, exibiram aumento na expressão de RANKL e uma maior razão RANKL/OPG, enquanto o exercício aumentou a expressão de OPG e atenuou esse desequilíbrio pró-reabsortivo ($p<0,05$). Tanto os animais OVX quanto os controles SHAM não treinados exibiram aumento no número de osteoclastos e redução de osteoblastos, enquanto o exercício reduziu a osteoclastogênese e aumentou a atividade osteoblástica. Nos camundongos OVX, a MDO elevou ainda mais o número de osteoclastos em todos os grupos ($p<0,05$). Em nível sistêmico, animais OVX não

treinados apresentaram um perfil pró-inflamatório, parcialmente atenuado pelo treinamento de resistência, enquanto o treinamento aeróbico aumentou a razão IL-6/IL-10. Os resultados demonstram que, no contexto da osteopenia secundária à deficiência estrogênica, tanto o treinamento resistido quanto o aeróbio melhoraram a qualidade do osso alveolar e reduziram a MDO. Esses benefícios parecem envolver a modulação local da remodelação óssea, caracterizada pela redução da osteoclastogênese, aumento da atividade osteoblástica e regulação do eixo OPG/RANKL, juntamente com adaptações inflamatórias sistêmicas. Em conjunto, esses achados destacam o potencial do exercício físico como estratégia efetiva para preservar a saúde óssea craniofacial em condições de hipoestrogenismo.

Palavras-chave: estudo pré-clínico; deficiência estrogênica; exercício físico; doenças ósseas.

ABSTRACT

Increased longevity has been accompanied by conditions associated with sex hormone deficiency, including changes in bone homeostasis and bone tissue integrity, which contribute to the development of osteopenia and osteoporosis. In this context, non-pharmacological interventions, such as physical exercise, have been extensively investigated for their ability to modulate bone remodeling. However, important gaps remain regarding the effects of exercise on skeletal sites beyond those subjected to direct mechanical loading. Therefore, this study evaluated the effects of aerobic and resistance exercise on alveolar bone quality, a skeletal site not directly exposed to mechanical loading, in the absence and presence of orthodontic tooth movement (OTM), using an ovariectomy (OVX)-induced osteopenia model in female mice. Fifty-four female C57BL/6 mice underwent either ovariectomy (OVX) or sham surgery (SHAM). Animals from each surgical group were then allocated to one of three experimental groups (n = 9/group): untrained, resistance training (loaded ladder climbing), or aerobic training (treadmill running). The training protocols were conducted over eight weeks, with orthodontic tooth movement (OTM) induced during the final 14 days. Bone microarchitecture and orthodontic tooth movement were evaluated, along with the expression of genes involved in bone remodeling (RUNX2, RANKL, and OPG) and the quantification of osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts by conventional light microscopy. Body weight, physical performance, and systemic inflammatory status were also assessed based on the ratio of serum levels of IL-1β, IL-6, TNF-α, and IL-10. Both exercise modalities improved bone parameters compared with untrained OVX mice. Notably, resistance training induced greater increases in bone mineral density, bone volume, and bone volume fraction, whereas aerobic training was primarily associated with reduced trabecular separation ($p < 0.05$). Both exercise protocols attenuated OTM, with a more pronounced decrease observed in aerobically trained mice, while untrained OVX mice showed the highest tooth displacement ($p < 0.05$). Untrained OVX mice, particularly those subjected to OTM, exhibited increased RANKL expression and a higher RANKL/OPG ratio, whereas exercise increased OPG expression and mitigated the pro-resorptive imbalance ($p<0,05$). OVX mice and untrained SHAM controls showed comparable increases in osteoclast numbers and decreases in osteoblast numbers, whereas in the exercise-trained groups, exercise reduced osteoclastogenesis and increased osteoblastic activity. In OVX mice, OTM further increased osteoclast numbers across all groups ($p < 0.05$). Systemically, untrained OVX mice displayed a pro-inflammatory profile, partially mitigated by resistance training, while aerobic training increased the IL-6/IL-10 ratio. The present results show that

both resistance and aerobic exercise improve alveolar bone quality and reduce OTM in the context of estrogen deficiency-induced osteopenia. These benefits appear to involve local modulation of bone remodeling, including reduced osteoclastogenesis, increased osteoblastic activity, and regulation of the OPG/RANKL axis, as well as systemic inflammatory adaptations. Overall, these findings indicate that physical exercise is an effective strategy to preserve craniofacial bone health in hypoestrogenic conditions.

Keywords: preclinical study; estrogen deficiency; physical exercise; bone diseases.

INDICADORES DE IMPACTO

A presente tese gera impactos científicos, sociais e tecnológicos, ao ampliar o conhecimento sobre os efeitos sistêmicos do exercício físico na qualidade óssea de regiões não diretamente submetidas à sobrecarga mecânica, em um modelo experimental de osteopenia induzida por ovariectomia. Os resultados fornecem evidências experimentais sobre o papel do estímulo induzido pelo exercício físico nos parâmetros estruturais, celulares e moleculares do osso alveolar, contribuindo para a compreensão dos mecanismos envolvidos na remodelação óssea em condições de deficiência estrogênica. Os impactos potenciais abrangem os campos das Ciências Veterinárias, da biologia óssea e da fisiologia do exercício, fornecendo evidências de que poderão subsidiar o desenvolvimento de estratégias não farmacológicas voltadas à prevenção e ao manejo da perda óssea associada ao envelhecimento, ao hipoestrogenismo e a outras condições osteometabólicas. Do ponto de vista social e econômico, os achados fornecem relevante conhecimento, para beneficiar populações expostas ao risco de osteopenia e osteoporose, favorecendo a promoção da saúde e a qualidade de vida. Os achados sustentam a relevância do estímulo mecânico como estratégia acessível, de baixo custo e com potencial translacional para a preservação da saúde óssea craniofacial, apresentando implicações para o manejo de alterações periodontais e de perda óssea alveolar em condições de hipoestrogenismo. Além disso, a identificação de alterações celulares, estruturais e moleculares, associadas ao exercício físico, podem contribuir para o aprimoramento de protocolos experimentais voltados à avaliação de intervenções em doenças osteometabólicas, bem como para a prospecção de novos alvos terapêuticos relacionados à saúde óssea, reduzindo a dependência exclusiva de terapias medicamentosas. O impacto tecnológico está associado à produção de evidências experimentais que fortalecem a pesquisa e apoiem a formulação de protocolos de prevenção e reabilitação óssea. Quanto às áreas temáticas da Política Nacional de Extensão, os impactos podem ser classificados principalmente nas áreas de Saúde e Educação, em razão da produção e disseminação de conhecimento aplicado à saúde óssea. Adicionalmente, os resultados apresentam alinhamento com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas, especialmente o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ao contribuir para a prevenção de doenças crônicas e promoção da saúde, e o ODS 4 (Educação de Qualidade), por meio da geração e difusão de conhecimento científico. Os impactos descritos potencializam perspectivas de aplicação futura em ações de pesquisa, ensino, extensão e inovação envolvendo a temática de saúde óssea.

IMPACT INDICATORS

This thesis generates scientific, social, and technological impacts by expanding knowledge on the systemic effects of physical exercise on bone quality in skeletal sites not directly subjected to mechanical loading, using an experimental model of ovariectomy-induced osteopenia. The results provide experimental evidence on the role of exercise-induced stimuli in the structural, cellular, and molecular parameters of alveolar bone, contributing to the understanding of the mechanisms involved in bone remodeling under conditions of estrogen deficiency. The potential impacts extend to the fields of Veterinary Sciences, bone biology, and exercise physiology, providing evidence that may support the development of non-pharmacological strategies for the prevention and management of bone loss associated with aging, hypoestrogenism, and other osteometabolic conditions. From a social and economic perspective, the findings provide relevant knowledge that may benefit populations at risk of osteopenia and osteoporosis, promoting health and quality of life. The findings support the relevance of mechanical stimulation as an accessible, low-cost strategy with translational potential for preserving craniofacial bone health, with implications for the management of periodontal alterations and alveolar bone loss under conditions of hypoestrogenism. Additionall, the identification of cellular, structural, and molecular changes associated with physical exercise may contribute to the refinement of experimental protocols for the evaluation of interventions in osteometabolic diseases, as well as to the identification of new therapeutic targets related to bone health, reducing the exclusive reliance on pharmacological therapies.The technological impact is associated with the generation of experimental evidence that strengthens research and supports the development of bone prevention and rehabilitation protocols. Regarding the thematic areas of the National Extension Policy, the impacts can be primarily classified within the fields of Health and Education, due to the production and dissemination of knowledge applied to bone health. Furthermore, the results are aligned with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 3 (Good Health and Well-being), by contributing to the prevention of chronic diseases and health promotion, and SDG 4 (Quality Education), through the generation and dissemination of scientific knowledge. These impacts broaden future perspectives for research, teaching, extension, and innovation in bone health.

LISTA DE SIGLAS

BGLAP	Gene codificador da proteína osteocalcina
BMP-2	Proteína morfogenética óssea 2
BMPs	Proteínas morfogenéticas ósseas
COX-2	Ciclooxigenase-2
CSF-1	Fator estimulador de colônias 1
DKK-1	Dickkopf-1
DMO	Densidade mineral óssea
DMP1	Proteína da matriz dentinária 1
EP2	Receptor de prostaglandina E2 subtipo 2
EP4	Receptor de prostaglandina E2 subtipo 4
ERs	Receptores de estrogênio
ERα	Receptor de estrógeno tipo α
ERβ	Receptor de estrógeno tipo β
FGF23	Fator de crescimento de fibroblastos 23
GPER	Receptor de estrógeno acoplado à proteína G
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina
IL- 6	Interleucina 6
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 beta
LRP5/6	Correceptores da via Wnt (LRP5 e LRP6)
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
M-CSF	Fator estimulante de colônia de macrófagos
NO	Óxido nítrico
OCN	Osteocalcina
OPG	Osteoprotegerina
OPN	Osteopontina

OSX	Osterix
PDG	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PHEX	Gene regulador do metabolismo do fosfato
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador do fator nuclear κB
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kB
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RUNX2	Fator de transcrição relacionado à Runt 2
SOST	Gene que codifica a esclerostina
SPP1	Gene que codifica a proteína Osteopontina
TA	Treino Aeróbico
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TR	Treino Resistido
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VO_2max	Consumo máximo de oxigênio
Wnt	Via de sinalização Wnt

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE 15
1 INTRODUÇÃO 15
2 REFERENCIAL TEÓRICO 17
2.1 Osteopenia e osteoporose 17
2.1.1 Caracterização e relevância clínica 17
2.1.2 Biologia do tecido ósseo e mecanismos de remodelação 18
2.1.3 Fisiopatologia da osteopenia e osteoporose 23
2.2 Modelo experimental de movimentação dentária em quadro de osteopenia induzida por ovariectomia 26
2.3 Exercício físico 289
2.3.1 Treinamento aeróbico versus Treinamento resistido 29
2.3.2 Exercício físico e o tecido ósseo: bases mecanobiológicas 301
2.3.3 Efeitos sistêmicos do exercício sobre o osso 32
2.3.4 Efeitos do Treinamento físico na osteopenia 35
3 OBJETIVOS 38
3.1 Objetivo geral 38
3.2 Objetivos específicos 38
SEGUNDA PARTE 39
ARTIGO 1 - AEROBIC AND RESISTANCE EXERCISE REMODEL BONE QUALITY BEYOND MECHANICAL LOADING IN AN ESTROGEN-DEFICIENT TOOTH MOVEMENT MODEL 40
2.1 Experimental animals 44
2.5 Euthanasia and tissue collection 47
2.6 Micro-CT analysis (micro-computed tomography) 47
3.2 Micro-CT Analysis 50
TERCEIRA PARTE 71
1 CONSIDERAÇÕES GERAIS 71
REFERÊNCIAS 72
ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DE PROJETO NO COMITÊ DEÉTICA NO USO DE ANIMAIS 82
ANEXO B – ESTEIRA (A) E ESCADAS (B) UTILIZADAS PARA OS TREINOS AERÓBICOS E DE RESISTÊNCIA, RESPECTIVAMENTE 83

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento está associado ao declínio progressivo na síntese e secreção de hormônios sexuais, causando relevante impacto na homeostase e na integridade do tecido ósseo (Xiao *et al*., 2022). Nesse cenário, a deficiência estrogênica destaca-se como um dos principais determinantes do desequilíbrio entre formação e reabsorção óssea, favorecendo a redução de massa mineral e a deterioração da microarquitetura esquelética (Langdahl; Ferrari; Dempster, 2016). Como consequência, instala-se um fenótipo de osteopenia que pode evoluir para osteoporose. A osteopenia configura uma condição de transição crítica entre densidade mineral óssea normal e a osteoporose, cuja compreensão é fundamental para a prevenção da fragilidade óssea e fraturas (Riaz *et al.*, 2024). Ambas as condições apresentam impacto significativo na saúde, associando-se à redução da independência funcional e à elevação dos custos assistenciais, além de importantes repercussões socioeconômicas (Fan *et al*., 2024).

A remodelação óssea é um processo dinâmico que depende da ação coordenada de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos que garantem a renovação estrutural e a adaptação mecânica do osso (Chen; Senda; Kubo, 2015; Klein-Nulend *et al*., 2013). A regulação desse processo envolve uma complexa interação entre fatores sistêmicos e locais que, de forma integrada, modulam a atividade das células ósseas (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022; Dirckx *et al*., 2019). Entre os principais determinantes destacam-se os hormônios, o perfil de citocinas circulantes, o estado metabólico e as influências mecânicas globais do organismo (Baron; Kneissel, 2013; Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022). A deficiência estrogênica altera esse processo ao favorecer a osteoclastogênese, intensificar respostas inflamatórias e comprometer a atividade osteoblástica e a vascularização, culminando em perda progressiva de massa óssea (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019; Murai *et al*., 2015).

Nesse contexto, modelos experimentais em roedores, como a ovariectomia, são amplamente utilizados por reproduzirem de forma controlada aspectos centrais da osteopenia induzida por deficiência estrogênica, permitindo investigar mecanismos biológicos e estratégias terapêuticas com potencial translacional para a saúde humana e veterinária (Deriggi-Pisani *et al*., 2023; Park; Lee; Chung, 2010). Entre essas estratégias, o exercício físico tem recebido destaque pela sua capacidade de gerar estímulos biomecânicos capazes de modular a remodelação óssea e contribuir para a prevenção e o tratamento da osteopenia e da osteoporose. O exercício físico efetivamente pode inibir ou até mesmo reverter o declínio adicional na

densidade mineral óssea (DMO) e consequentemente retardar a perda óssea (Varahra *et al*., 2018). Além de promover estresse mecânico, capaz de estimular a produção e a diferenciação celular (Asiry, 2018), o treinamento físico favorece o aumento da perfusão sanguínea e do aporte de nutrientes ao tecido ósseo. Adicionalmente, estimula vias osteogênicas e modula a liberação de mediadores inflamatórios e fatores imunológicos circulantes, contribuindo para a manutenção da homeostase e do metabolismo ósseo (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019).

A saúde bucal e, particularmente, a função mastigatória são consideradas importantes para a qualidade de vida (Chen *et al*., 2011). Alterações na estrutura e no metabolismo ósseo podem favorecer o desenvolvimento e a progressão de doenças periodontais, contribuindo para a perda de inserção, mobilidade dentária e edentulismo (Zhang; Zhang, 2017). Evidências sugerem uma associação entre a prática de exercício físico e a manutenção da saúde óssea bucal (Pereira *et al*., 2020). A qualidade óssea em regiões não diretamente submetidas à carga mecânica, como as regiões ósseas ao redor de dentes em movimentação ortodôntica pode ser modulada por mecanismos sistêmicos relacionados à homeostase mineral, à resposta inflamatória e à regulação endócrina (Asiry, 2018). Diferentes modalidades de treinamento físico, incluindo o exercício resistido e o aeróbico, têm potencial para modular o metabolismo ósseo por meio de vias fisiológicas distintas (Nunes-Silva *et al*., 2014; Pereira *et al*., 2020).

Embora os efeitos da atividade física em sítios do esqueleto apendicular e axial sejam bem estabelecidos, seu impacto em regiões não diretamente expostas à sobrecarga mecânica, em condições de osteopenia/osteoporose, permanece pouco compreendido. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos de diferentes modalidades de treinamento físico, aeróbico e resistido, sobre a modulação da qualidade óssea alveolar em um modelo experimental de osteopenia induzida por ovariectomia. Para isso, a movimentação dentária foi empregada como ferramenta biológica para avaliar a resposta remodeladora do tecido ósseo. Ao integrar evidências da literatura com análises experimentais, o estudo buscou elucidar os mecanismos envolvidos e ampliar a compreensão sobre o potencial de intervenções não farmacológicas no manejo da osteopenia e da osteoporose.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Osteopenia e osteoporose

A osteopenia e a osteoporose constituem distúrbios relacionados ao desequilíbrio do metabolismo ósseo (Riaz *et al*., 2024). Apresentam etiologia multifatorial, sendo a deficiência estrogênica um dos principais fatores associados ao comprometimento da massa e da qualidade estrutural (Cappola *et al*., 2023). A elucidação de seus aspectos clínicos, biológicos e fisiopatológicos fornece a base para o entendimento dos mecanismos envolvidos na remodelação óssea e para a investigação de estratégias preventivas e terapêuticas, incluindo intervenções não farmacológicas, como o exercício físico (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019).

2.1.1 Caracterização e relevância clínica

A osteopenia é uma condição clínica caracterizada por baixa densidade mineral óssea (DMO) e está associada a um risco aumentado de osteoporose e fraturas ósseas. Embora haja perda de massa óssea, a diminuição da DMO ainda não atinge o limiar diagnóstico da osteoporose (Riaz *et al*., 2024). Já a osteoporose, reconhecida como um importante problema de saúde pública global, é um distúrbio esquelético sistêmico caracterizado pela acentuada redução da massa e densidade óssea, bem como a deterioração da microarquitetura, resultando em menor resistência e maior fragilidade (Cosman *et al*., 2014). A fragilidade esquelética, proveniente da evolução da doença, aumenta a probabilidade de fraturas por baixo impacto, um desfecho clínico de grande relevância por estar associado à incapacidade funcional, à morbidade e à mortalidade elevadas. Tanto indivíduos com osteopenia quanto aqueles com osteoporose podem apresentar redução na capacidade para realizar atividades da vida diária, comprometendo sua autonomia e qualidade de vida (Nicholson *et al*., 2025).

A perda óssea relacionada ao envelhecimento decorre principalmente do aumento da atividade de reabsorção associado à redução da formação óssea. A regulação da massa óssea envolve um equilíbrio complexo, ao longo da vida, até o início do declínio próprio da idade (Langdahl; Ferrari; Dempster, 2016). O envelhecimento é associado a uma redução progressiva da atividade gonadal, ocasionando declínio de hormônios sexuais esteroides (Cappola *et al*., 2023). Esse processo geralmente afeta mulheres em idades superiores a 45-50 anos e pode se estender por um terço da vida, de acordo com a expectativa atual de longevidade (Bacon, 2017; Clegg *et al*., 2017). Assim, a osteopenia e a osteoporose tendem a se manifestar com maior

frequência após a menopausa. Embora clinicamente silenciosa e frequentemente assintomática, a doença pode manifestar deformações ósseas e dor difusa, especialmente na coluna vertebral (Eirini *et al*., 2022).

A osteopenia e a osteoporose afetam aproximadamente 40,4% e 19,7% da população global, respectivamente. A prevalência varia consideravelmente entre os países e continentes, sendo maior em países em desenvolvimento que em países desenvolvidos (Xiao *et al*., 2022). Com o aumento da expectativa de vida e o consequente envelhecimento da população, é previsto um aumento importante do impacto médico, econômico e social da osteoporose nos próximos anos (Nicholson *et al*., 2025). Embora os efeitos da deficiência estrogênica sobre o metabolismo ósseo estejam bem estabelecidos em modelos experimentais (Kim *et al*., 2020), a literatura veterinária apresenta resultados divergentes quanto ao impacto clínico da ovariectomia, utilizada na castração, sobre a DMO em animais de companhia (Cline *et al*., 2018; Kostenko; Pockevičius; Maknickas, 2023). Ainda assim, alterações hormonais associadas ao envelhecimento e à gonadectomia podem influenciar processos de remodelação óssea e respostas inflamatórias com possíveis repercussões sobre a saúde musculoesquelética e periodontal (Kostenko; Pockevičius; Maknickas, 2023; McKenzie, 2025). Nesse sentido, o aumento da expectativa de vida dos animais de companhia tem sido acompanhado por maior prevalência de alterações associadas ao envelhecimento que podem comprometer a qualidade de vida e a funcionalidade desses animais (Armstrong; Oh, 2025).

2.1.2 Biologia do tecido ósseo e mecanismos de remodelação

O tecido ósseo é uma forma especializada de tecido conjuntivo, altamente plástico e mineralizado que desempenha funções de sustentação, proteção e reserva mineral. É constituído por uma fase inorgânica, mineralizada predominantemente por cristais de hidroxiapatita e uma matriz orgânica composta principalmente por colágeno tipo I, pequenas quantidades de proteoglicanos e proteínas não colágenas como osteocalcina (OCN) e osteopontina (OPN), além de diferentes populações celulares especializadas (Crockett *et al*., 2011). As proporções relativas desses vários componentes no tecido ósseo variam com a idade, localização, sexo, etnia, doença e tratamento (Boskey, 2013). Suas estruturas inervadas e irrigadas apresentam grande sensibilidade e capacidade de regeneração. Em razão dos processos de crescimento, modelação e remodelação óssea, o tecido está em constante modificação (Manolagas; O'Brien; Almeida, 2013).

Anatomicamente, o tecido é dividido em dois tipos ósseos estruturais, o tecido cortical (compacto) e o tecido trabecular (esponjoso). O osso cortical compõe a camada externa dos ossos longos e apresenta uma estrutura densa organizada em osteóns ou sistemas de Havers, compostos por lamelas concêntricas dispostas ao redor de canais centrais que contêm vasos sanguíneos e nervos, conectados por canais de Volkmann que facilitam a comunicação vascular e nervosa (Datta *et al*., 2008). Sua estrutura representa 80% do volume ósseo total, caracterizando-se por uma estrutura compacta de baixa porosidade que provê solidez contra forças torcionais e de flexão (Parfitt, 2002).

Já o osso trabecular, predominante nas epífises dos ossos longos e nas vértebras, é formado por uma rede tridimensional de trabéculas interconectadas, entre as quais se localiza a medula óssea, desempenhando papel essencial no metabolismo mineral e na remodelação óssea (Seeman, 2008). Possui uma morfologia porosa, ampla superfície de contato e vascularização, e, embora represente apenas 20% da massa esquelética, é responsável por grande parte da remodelação óssea, pois apresenta dinamismo metabólico, sendo crucial para o equilíbrio mineral e respostas endócrinas (Parfitt, 2002).

Diferentes populações celulares especializadas compõem o tecido ósseo. As células consideradas constituintes incluem todas as células ósseas, em todos os estágios de diferenciação, interagindo com seus progenitores, células T e componentes da matriz óssea (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022). A ação coordenada dos três principais tipos osteoblastos, osteoclastos e osteócitos garante a manutenção e a homeostase do tecido. Os osteoblastos, caracterizados como células formadoras de osso derivadas de células-tronco mesenquimais, desempenham papel crucial na formação, manutenção e remodelação óssea. Suas funções abrangem a síntese da matriz orgânica, a mineralização, a produção de moléculas de sinalização e a modulação da atividade dos osteoclastos (Liu *et al*., 2015). Quando ativos, os osteoblastos apresentam formato cúbico ou colunar e localizam-se, ao longo da superfície óssea, dispostos em camadas contínuas que revestem as áreas de síntese. Após o término da formação óssea, parte dessas células sofre apoptose, enquanto a fração remanescente diferencia-se em osteócitos ou em células de revestimento ósseo (Rosenberg; Rosenberg; Soudry, 2012).

Os osteócitos, os quais representam mais de 90% das células ósseas, são osteoblastos terminalmente diferenciados incorporados na matriz mineralizada (Crockett *et al*., 2011). Essas células estendem longos prolongamentos citoplasmáticos, formando uma extensa rede intercelular, por meio do sistema lacuno-canalicular e junções comunicantes, que permitem a comunicação entre osteócitos e células de superfície, regulando finamente o turnover ósseo (Leser *et al*., 2021). Assim, apresentam um papel central como mecanossensores do esqueleto

ao detectar e responder a estímulos mecânicos ambientais geradas por cargas físicas e alterações no fluxo de fluido intersticial convertendo esses estímulos em sinais bioquímicos que influenciam na atividade de osteoblastos e osteoclastos (Jaalouk; Lammerding, 2009).

Já os osteoclastos são células multinucleadas derivadas do sistema imune, a partir da linhagem hematopoiética monócito/macrófago e são responsáveis pela reabsorção óssea (Tanaka; Nakayamada; Okada, 2005). Ao aderirem à superfície óssea, essas células formam um compartimento extracelular selado, no qual secretam prótons e enzimas proteolíticas, como a catepsina K, promovendo a degradação das matrizes mineral e orgânica e, consequentemente, a formação das lacunas de Howship (Epsley *et al*., 2021). A diferenciação e a atividade osteoclástica são fortemente reguladas pelo sistema ativador do receptor do fator nuclear κB (RANK)/ ligante do ativador do receptor do fator nuclear κB (RANKL)/osteoprotegerina (OPG), considerado o principal mecanismo molecular da reabsorção óssea (Khosla, 2001).

Ao longo da vida, o tecido ósseo se renova por meio da remodelação. A remodelação óssea representa um processo vital e contínuo que garante a integridade esquelética e mantém a homeostase mineral (Datta *et al*., 2008; Xing *et al*., 2025). Esse processo é influenciado tanto por fatores locais quanto sistêmicos. Dessa forma, a manutenção do equilíbrio da massa óssea, após o processo de remodelação, resulta da interação entre as condições mecânicas do ambiente e os fatores metabólicos (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022; Dirckx *et al*., 2019). A massa óssea é sistemicamente regulada desde o nascimento. Na infância, há uma taxa muito alta de renovação óssea, na qual a formação excede a reabsorção. Na idade adulta jovem, a formação e a reabsorção permanecem em equilíbrio, mantendo a massa óssea estável por duas décadas, até o início da perda óssea associada à idade (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022). A taxa de remodelação, a qualidade da matriz de colágeno, bem como as características estruturais como tamanho, geometria e densidade mineral determinam as propriedades mecânicas do tecido ósseo. Alterações em qualquer um desses componentes podem comprometer a resistência óssea e favorecer o desenvolvimento de condições como a osteoporose. Dessa forma, a manutenção da integridade mecânica do osso depende de um processo de remodelação finamente regulado (Datta *et al*., 2008).

A remodelação óssea é caracterizada pelas fases de ativação, quando os osteoclastos são recrutados; a fase de reabsorção, pelos osteoclastos; a fase de reversão, por apoptose de osteoclastos e recrutamento de osteoblastos; e a fase de formação, por depósito de nova matriz que se mineraliza (Khosla, 2001). O processo depende do equilíbrio entre a reabsorção da matriz óssea mineralizada pelos osteoclastos e a formação de nova matriz pelos osteoblastos. Parte de sua ativação é regulada pelos osteócitos, por meio da detecção de estímulos mecânicos

e bioquímicos. Esse processo fortemente acoplado na remodelação óssea refere-se à transferência de informações dentro do conjunto de células responsáveis pela remodelação. O desequilíbrio desse acoplamento pode levar à deterioração da integridade óssea, um aumento significante do risco de fraturas e impactar negativamente o bem-estar geral (Chen; Senda; Kubo, 2015; Klein-Nulend *et al*., 2013).

Ainda que ambas as células osteoblastos e osteoclastos contribuam de maneira individual para a remodelação óssea, suas interações celulares determinam o tipo e a extensão desse processo. O sistema OPG/RANKL/RANK é um determinante central na osteoclastogênese e na atividade reabsortiva de osteoclastos (Liu *et al*., 2005). O RANKL produzido pelos osteoblastos se liga ao receptor RANK, presente na superfície das células precursoras dos osteoclastos, induzindo sua diferenciação, adesão ao tecido ósseo e ativação (Tobeiha *et al*., 2020). As células precursoras de osteoblastos também produzem a OPG, que desempenha um papel antiosteoclastogênese com ligação ao RANKL, inibindo sua interação com o RANK. O equilíbrio entre RANKL e OPG promove homeostasia óssea regulando o número e a atividade dos osteoclastos (Khosla, 2001)**.**

Além disso, por outro mecanismo, os osteoclastos estimulam os osteoblastos, usando a mesma via RANKL-RANK, desencadeando a sinalização reversa e promovendo a formação óssea, ou seja, o RANKL atua como receptor. Os osteoclastos liberam vesículas extracelulares contendo RANK, o RANK vesicular se liga ao RANKL na superfície dos osteoblastos. A ligação desencadeia a ativação de mTOR, estimulador da expressão e atividade do RUNX2, um fator de transcrição essencial para a diferenciação de precursores de osteoblastos em osteoblastos maduros, processo que envolve deposição de matriz orgânica, composta por colágeno tipo I e proteínas não colágenas (OCN, OPN), seguida pela sua posterior mineralização (Ikebuchi *et al*., 2018). Na formação óssea, a regulação do processo depende de múltiplas vias de sinalização. Ocorre com a diferenciação de pré-osteoblastos em osteoblastos e é regulada por fatores de crescimento, como o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), o fator de crescimento transformador-β (TGF-β), as Proteínas Morfogenéticas Ósseas (BMPs) e a via de sinalização Wnt/ β-catenina (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022).

Os fatores de crescimento IGF e TGF-β, liberados na matriz extracelular, atuam como reguladores da remodelação óssea. O TGF-β em sua forma ativa induz a migração de pré-osteoblastos e a produção de Wnt pelos osteoclastos. As proteínas Wnt integram uma família de glicoproteínas envolvidas em cascatas de sinalização intracelular que promovem o recrutamento, a diferenciação osteoblástica nos sítios de reabsorção e a subsequente mineralização da matriz óssea (Ota *et al*., 2013). O fator de crescimento semelhante à insulina-

1 (IGF-1) auxilia no recrutamento e promove a diferenciação e a mineralização da matriz por osteoblastos, pela regulação positiva da transcrição de genes osteogênicos e suas respectivas proteínas. Entre eles estão *RUNX2* / RUNX2, *DMP1* / proteína da Matriz Dentária 1 (DMP1), *PHEX* / PHEX que regula o metabolismo do fosfato, *SPP1* / proteína de adesão e comunicação celular (OPN) e *BGLAP* / proteína marcadora de maturação óssea (OCN) e *BMP2* / BMP2, enquanto suprime a expressão de *SOST* / Esclerostina, um regulador negativo da formação óssea (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022). As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), particularmente BMP2 e BMP7, desempenham importante papel na osteoblastogênese ao induzrem a expressão e atividade *RUNX2* (Chen; Deng; Li, 2012).

A via Wnt/β-catenina constitui uma das vias mais críticas para a osteogênese, promovendo a proliferação e a diferenciação osteoblástica por meio da ativação de genes osteogênicos e da supressão da adipogênese. Este eixo é finamente modulado por inibidores como a esclerostina (Robinson *et al*., 2006). Os osteócitos expressam e secretam a esclerostina (SOST) de forma constitutiva, atuando como um inibidor da sinalização Wnt e, consequentemente, da osteoblastogênese e da formação óssea. Em resposta à detecção de tensão, à mecanotransdução, a via Wnt/β-catenina é ativada e inibe a expressão de *SOST*, libera a ativação da sinalização Wnt e desencadeia a translocação nuclear e a ação transcricional da β-catenina (Keller; Kneissel, 2005). Além disso, essa via pode ser modulada por fatores sistêmicos, como o estrogênio e o IGF-1, que atuam de forma sinérgica para estabilizar a β-catenina e inibir a expressão de esclerostina (Liedert *et al*., 2010). A β-catenina promove a expressão de genes osteogênicos fundamentais, como *RUNX2* e Osterix (*OSX*) (Chang; Xu; Zhang, 2022). Paralelamente, a via Wnt/β-catenina exerce efeito inibitório sobre a osteoclastogênese e a atividade osteoclástica, por meio da regulação da razão OPG/RANKL em osteoblastos (Robinson *et al*., 2006).

A remodelação óssea também depende de uma interação coordenada entre células ósseas e o sistema vascular (Ramasamy *et al*., 2016). Estudos demonstram que a angiogênese e a osteogênese são processos acoplados, compartilhando mediadores moleculares comuns, entre os quais se destaca o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Os osteoblastos expressam VEGF, que promove a formação de novos vasos sanguíneos e, simultaneamente, estimula a formação óssea (Hu; Olsen, 2016). A neoformação vascular mediada por VEGF não apenas supre o aporte de nutrientes, como pode desencadear aumento da permeabilidade vascular, favorecer o recrutamento e a diferenciação de células osteoprogenitoras e cascatas de sinalização. Esse microambiente estimula a produção de citocinas, proteinases e outros mediadores que, por sua vez, influenciam condrócitos, condroclastos e osteoblastos. Logo a

rede vascular atua como um regulador ativo da qualidade óssea e não apenas como um suporte passivo (Gerber *et al*., 1999; Ramasamy *et al*., 2016).

Além disso, o metabolismo ósseo é fortemente influenciado por estímulos mecânicos, os quais direcionam a deposição de matriz para as áreas submetidas a maiores cargas, evidenciando a capacidade adaptativa do tecido esquelético e a ação de outros mecanismos sistêmicos (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Adicionalmente, esse dinamismo é modulado por múltiplos hormônios e mecanismos sistêmicos. Em condições fisiológicas, o paratormônio (PTH) regula positivamente o equilíbrio da remodelação óssea, no sentido da expansão dos osteoblastos**.** Inversamente, concentrações elevadas de PTH induzem a remodelação óssea expandindo o número de osteoclastos via liberação de RANKL (Ben-awadh *et al*., 2014). Já a 1,25-dihidroxivitamina D apresenta efeito modulador sobre a mineralização da matriz (Rolvien *et al*., 2017).

O estrogênio e a calcitonina desempenham papeis inibitórios na reabsorção óssea, promovendo o equilíbrio entre os processos (Schini *et al*., 2023), enquanto mediadores inflamatórios como TNF-α e IL-1β favorecem vias catabólicas ao suprimir RUNX2. Em contrapartida, a irisina, uma miocina produzida pelos músculos, apresenta um efeito osteogênico em um ciclo regulatório envolvendo osteócitos e metabolismo muscular (Pereira *et al*., 2022). Assim, a remodelação óssea resulta da integração precisa entre sinais genéticos, mecânicos, endócrinos e parácrinos, garantindo a manutenção da microarquitetura e da qualidade do tecido ao longo do tempo (Baron; Kneissel, 2013; Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022).

2.1.3 Fisiopatologia da osteopenia e osteoporose

A homeostase óssea é mantida por um processo contínuo de remodelação, que depende do equilíbrio finamente regulado entre a atividade osteoclástica e a osteoblástica. Em condições fisiológicas, a formação óssea ocorre de maneira acoplada à reabsorção, assegurando a renovação e a integridade do tecido. Entre os fatores reguladores da homeostase esquelética, os hormônios sexuais têm um importante papel no metabolismo e na manutenção da massa óssea (Mada *et al*., 2017; Riaz *et al*., 2024). Os estrogênios, incluindo o 17β-estradiol (E2), sua forma mais abundante, atuam por meio de receptores de estrogênio (ERs), os quais são expressos no osso, por osteoblastos, osteócitos e os osteoclastos e em outras partes do organismo.

Os receptores de estrógeno ERα, ERβ e ER acoplados à proteína G (GPER), mediam os efeitos de compostos estrogênicos em seus tecidos-alvo (Ivanova *et al*., 2015). A ligação do

estrogênio ao ERα ou ERβ resulta na translocação do receptor para o núcleo, seguida da formação de um complexo proteico com outros fatores de transcrição para influenciar a expressão gênica. As ações de ERα e ERβ em muitos tecidos-alvo são distintas e dependem da predominância do subtipo α ou β no tecido, do ligante e da resposta na regulação gênica (Shi; Morgan, 2024).

Os efeitos do estrogênio no tecido ósseo são, em grande parte, mediados por sua ação no sistema imunológico. Ele regula negativamente as respostas imunes inflamatórias, interferindo na síntese de citocinas que influenciam diretamente o tecido ósseo (D'Amelio *et al*., 2011). Mediadores inflamatórios sistêmicos, como citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-1β e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), assim como alterações mitocondriais e a elevação do estresse oxidativo, desempenham um papel crucial na remodelação óssea. Níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias podem ocasionar a osteoclastogênese, evidenciando a estreita conexão entre o sistema imunológico e o tecido ósseo (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019; Murai *et al*., 2015). Os efeitos protetores do E2 no osso associam-se a mecanismos como a repressão de citocinas pró-osteoclásticas, entre elas a IL-1, IL-6 e TNF-α, em células T e osteoblastos, assim como a indução da apoptose em osteoclastos promovendo o aumento da massa óssea (Khalid; Krum, 2016).

A IL-1β e a IL-6 participam da regulação da síntese de prostaglandinas, particularmente da prostaglandina E_2 (PGE_2), a qual estimula a osteoclastogênese e a atividade reabsortiva dos osteoclastos (Epsley *et al*., 2021). Evidências demonstram que a IL-1 induz aumento na expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2) tanto em níveis de RNA mensageiro (mRNA) quanto proteicos, ocasionando um aumento na produção de PGE. A COX-2 e a PGE2, um importante produto da via catalisada pela COX-2, desempenham papéis fundamentais na dinâmica do tecido ósseo, atuando na modulação da atividade celular. A ativação dos receptores de PGE (EP2 e EP4) está associada à diferenciação de osteoclastos (De Araújo Júnior *et al*., 2013). Além disso, PGE2 foi capaz de promover a reabsorção óssea por aumento da transcrição da IL-6, reforçando o ambiente pró-reabsortivo (Liu *et al*., 2005). Assim, o declínio do estrogênio decorrente da hipofunção ovariana e exaustão dos folículos associados ao envelhecimento desencadeia uma série de modificações no sistema imune e no metabolismo ósseo que explicam deterioração rápida da densidade e da microarquitetura óssea observada nesse período (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). A reabsorção óssea excessiva, em comparação à formação óssea, resulta em uma perda de DMO. A perda óssea ocorre no osso trabecular e no osso cortical, estando associada a uma alta taxa de remodelação (Manolagas; O'Brien; Almeida, 2013).

Além de promover um ambiente pró-inflamatório, a deficiência de estrogênio também está associada à inibição da sinalização Wnt/β-catenina. Em condições de hipoestrogenismo, observa-se aumento de antagonistas da via Wnt, como a esclerostina (SOST) e o Dickkopf-1 (DKK-1). Esses fatores prejudicam a ligação de Wnt aos correceptores LRP5/6, promovendo a degradação da β-catenina e suprimindo a transcrição de genes osteogênicos (Cenci *et al*., 2000; Weitzmann; Pacifici, 2006). Concomitantemente, o estrogênio regula a osteoclastogênese via regulação da razão RANKL/OPG. Foi demonstrado que E2 aumenta a transcrição de OPG e suprime a síntese de RANKL. Somada a essa regulação, E2 exerce efeitos pró-osteoblásticos e antiapoptóticos de osteoblastos, ocasionando um aumento na formação óssea (Martin *et al*., 2015). O estrogênio e o ERα também podem influenciar a sensibilidade das células ósseas à tensão mecânica. Em contraste, a deficiência estrogênica favorece a apoptose osteocítica e compromete a mecanotransdução, acarretando piora na qualidade óssea (Chen; Senda; Kubo, 2015; Jiang *et al*., 2024; Saxon *et al*., 2012).

A perda do efeito inibitório sobre citocinas pró-inflamatórias e sobre o eixo RANKL/RANK no hipoestrogenismo resulta em aumento da atividade osteoclástica e intensificação da reabsorção óssea (Khalid; Krum, 2016). Ademais, foi demonstrado que o estrógeno atua diretamente no osteoclasto maduro reduzindo a secreção de enzimas lisossômicas e proteases como a catepsina B e L e a Fosfatase Ácida Resistente a Tartarato (TRAP), além de comprometer a formação de compartimentos selados na interface célula-osso, essenciais para o processo de degradação da matriz (Epsley *et al*., 2021). Esse hormônio também estimula o desenvolvimento e proliferação dos osteoblastos, a partir de células precursoras, além de aumentar a síntese de proteínas essenciais da matriz óssea, como pro-colágeno tipo I e TGF-β (Khalid; Krum, 2016).

Ademais, a redução da densidade vascular associa-se à deficiência de estrogênio. O hipoestrogenismo está relacionado à diminuição da expressão de VEGF e do fator induzível por hipóxia-α (HIF-α) resultando em comprometimento da formação de novos vasos. O prejuízo da perfusão tecidual compromete o suporte angiogênico necessário à formação óssea (Saran; Gemini Piperni; Chatterjee, 2014). Como consequência, ocorre um desacoplamento parcial entre angiogênese e osteogênese, caracterizado por predominância da reabsorção sobre a formação óssea, piora da microarquitetura e redução da qualidade do tecido ósseo (Krishnan; Davidovitch, 2006; Wise; King, 2008).

Uma associação entre osteoporose decorrente da senescência ovariana e diminuição na massa óssea alveolar tem sido relatada (Taguchi *et al*., 2007). A perda óssea bucal pode estar relacionada com a perda óssea sistêmica. A saúde do osso alveolar, como parte do maxilar e da

mandíbula que circunda e sustenta os dentes, é crucial para a estabilidade dental (Ayed *et al*., 2019). O osso acometido pela deterioração óssea aumenta a probabilidade de distúrbios periodontais, podendo levar ao aparecimento de mobilidade, perda de inserção e edentulismo (Zhang; Zhang, 2017). A saúde bucal e, sobretudo, a função mastigatória são determinantes para a manutenção da qualidade de vida, impactando diretamente os âmbitos físico, social e psicológico (Chen *et al*., 2011). O ERα desempenha papel indispensável à manutenção da microarquitetura óssea, inclusive no osso alveolar maxilar. A atuação desse receptor coordena a diferenciação e apoptose das células ósseas e modula a síntese de citocinas pró-inflamatórias no microambiente local, como TNF-α e IL-1β (MacAri *et al*., 2016). Evidências experimentais demonstram que a deficiência de estrogênio induz alterações osteoporóticas e adelgaçamento do osso alveolar no septo interradicular do primeiro molar de ratas. Esse fenômeno esteve associado à elevação de IL-6, TNF-α e a IL-1, na medula óssea, as quais atuam de forma cooperativa estimulando a reabsorção osteoclástica em condições de hipoestrogenismo (Saran; Gemini Piperni; Chatterjee, 2014; Tanaka *et al*., 2002). Ademais, mulheres na pós-menopausa que nunca usaram estrogênio apresentam menor densidade óssea alveolar e menos dentes em comparação à aquelas usaram, reforçando uma relação entre deficiência de estrogênio e saúde óssea alveolar (Ayed *et al*., 2019). Esse hormônio também modula a síntese de IGF, um dos mediadores mais importantes para a reparação e remodelamento do tecido ósseo, durante a movimentação dentária (Krishnan; Davidovitch, 2006).

Com o envelhecimento, a massa óssea e muscular esquelética diminui ocasionando limitações funcionais. Esse processo está associado a alterações na expressão de vários genes codificadores de proteínas, envolvidas na função mitocondrial, na via proteolítica ubiquitina-proteassoma, nas respostas ao estresse e na sinalização de hormônios, citocinas e fatores de crescimento nos músculos (Kang *et al*., 2025). Ainda, por um desequilíbrio progressivo entre formação e reabsorção óssea decorrente dos efeitos da senescência ovariana (Cappola *et al*., 2023). Nesse contexto, a sarcopenia e fragilidade, osteoporose e risco de fraturas se sobrepõem de maneira considerável, tornando evidente a interdependência funcional do eixo músculo-osso (Epsley *et al*., 2021). Em conjunto, o desequilíbrio nos mecanismos de remodelação óssea acarreta o seu desacoplamento, caracterizado pela redução da formação óssea paralelamente ao incremento da reabsorção. Esse processo culmina na perda de massa e na deterioração da microarquitetura tecidual, marcos da osteopenia e da osteoporose.

2.2 Modelo experimental de movimentação dentária em quadro de osteopenia induzida por ovariectomia

Considerando a alta prevalência de osteoporose em muitas populações, modelos experimentais têm sido amplamente utilizados para estudar os efeitos das alterações hormonais na saúde óssea. O modelo animal mais utilizado para estudo de alterações osteopênicas envolve roedores ovariectomizados (Deriggi-Pisani *et al*., 2023; Park; Lee; Chung, 2010). A ovariectomia (OVX), uma técnica experimental clássica, mimetiza a redução drástica da concentração de estrogênio pós-menopausa decorrente da remoção dos ovários. O estrogênio exerce importante papel no metabolismo ósseo, e a deficiência em sua síntese e secreção decorrentes da ovariectomia resultam em marcadores de perda óssea, estimulando a atividade reabsortiva mediada por osteoclastos (Komori, 2015). A OVX permite a exploração dos efeitos e mecanismos subjacentes às condições ósseas associadas à deficiência de estrogênio e à avaliação de intervenções terapêuticas não farmacológicas, como o exercício físico (Mada *et al*., 2017; Murai *et al*., 2015).

O reparo da estrutura óssea e da capacidade mecânica só pode ser obtida se esses processos forem revertidos por formas de tratamento, ocasionando um equilíbrio positivo entre reabsorção e formação (Queiroz Júnior *et al*., 2022). Muitos tratamentos realizados para a osteopenia e osteoporose na atualidade apresentam custo elevado e efeitos colaterais, o que motiva a realização de novas pesquisas. Experimentos com roedores, incluindo ratos e camundongos, representam uma alternativa interessante, uma vez que apresentam significativa similaridade com a genética humana, favorecendo interpretações translacionais (Mohammed; Kaklamanos, 2021).

O modelo de movimentação dentária em roedores é uma técnica experimental realizada pela aplicação prolongada de forças de compressão e tensão ao ligamento periodontal e osso alveolar. Essa técnica permite observar a remodelação óssea e deslocamento dentário (Mohammed; Kaklamanos, 2021). O movimento dentário ortodôntico é caracterizado pela remodelação óssea osteoclástica e osteoblástica e envolve também neuropeptídios e citocinas. Por meio de aplicação prolongada de forças, ocorrem a remodelação óssea e o deslocamento dentário, para uma nova posição periodontal formada pela reabsorção óssea no lado da compressão e formação óssea no lado da tensão (Meikle, 2006; Zeng *et al*., 2015). Tanto a reparação quanto a remodelação óssea envolvem a ativação e a interação complexa entre as vias angiogênicas e osteogênicas (Yamashiro; Takano-Yamamoto, 2001).

Ao longo da movimentação dentária induzida, ocorre uma deformação da matriz extracelular nos ligamentos periodontais, resultando em alterações na morfologia celular e na organização do citoesqueleto. Esse estímulo mecânico gera sinais biofísicos, como potenciais piezoelétricos transitórios, além de modificar a polarização da membrana e a atividade de canais

iônicos, culminando na ativação celular. A deformação tecidual também desencadeia a liberação de neuropeptídeos a partir de terminações nervosas aferentes. Algumas das moléculas geradas são vasoativas, ocasionando vasodilatação e migração de leucócitos para o espaço extravascular em que passam a secretar citocinas e fatores de crescimento relacionados ao metabolismo ósseo (Jeon *et al*., 2024). Dessa forma, a remodelação óssea associada ao movimento dentário é consequência de um processo inflamatório transitório desencadeada por estímulos mecânicos que envolvem células ósseas e do sistema imune (Jeon *et al*., 2024).

Ademais, danos aos tecidos podem ocorrer, conforme a compressão ou distensão dos capilares, levando à síntese e secreção de componentes da matriz extracelular, enzimas proteolíticas, ácidos e fatores locais, ocorre também a proliferação, a diferenciação celular e a remodelação óssea (Kavadia-Tsatala; Kaklamanos; Tsalikis, 2002; Zeng *et al*., 2015). A resposta óssea às forças mecânicas depende da rápida adaptação do suprimento sanguíneo no ligamento periodontal e no osso alveolar, regulando a atividade osteoclástica e osteoblástica necessária para a reabsorção e formação óssea (Krishnan; Davidovitch, 2006; Wise; King, 2008). Um aspecto crucial desse processo é a formação de uma rede vascular, que garante o aporte de nutrientes, oxigênio, hormônios sistêmicos e células precursoras, além de permitir a remoção de metabólitos, a adequada comunicação entre os compartimentos ósseo e sistêmico e promoção da osteogênese por meio da interação com o tecido ósseo (Jang; Yoon, 2024).

Na movimentação dentária, a renovação óssea acelerada, a reabsorção e a formação óssea são igualmente importantes (Yamashiro; Takano-Yamamoto, 2001). Em condições de baixa estrogênica, a resposta vascular e celular ao estímulo mecânico tende a ser reduzida, interferindo na quantidade de células progenitoras disponíveis para a formação óssea. Assim, a taxa e a qualidade da remodelação óssea alveolar são comprometidas (Krishnan; Davidovitch, 2006). Sob essa ótica, verificou-se que a osteopenia induzida pela ovariectomia pode afetar a velocidade da movimentação ortodôntica dentária (Mohammed; Kaklamanos, 2021; Yamashiro; Takano-Yamamoto, 2001). Embora os resultados em animais devam ser interpretados com cautela, a consideração de quaisquer aspectos relevantes é de importante observação por seu potencial de translação (Mohammed; Kaklamanos, 2021).

Por fim, o modelo de movimentação dentária em roedores ovariectomizados acopla os efeitos da indução de tensões mecânicas do modelo de movimentação dentária e da redução drástica da concentração de estrogênio da OVX, o que permite observar os efeitos locais e distantes na qualidade óssea (Taddei *et al*., 2012).

2.3 Exercício físico

O exercício físico constitui uma intervenção não farmacológica amplamente reconhecida por sua capacidade de modular o metabolismo ósseo. A prática regular de exercícios promove melhor saúde musculoesquelética e qualidade de vida geral. Músculos e ossos apresentam uma interdependência e sua saúde está interligada (Tagliaferri *et al*., 2015). Diferentes tipos de exercício podem impor efeitos distintos no metabolismo ósseo e na DMO (Moreira *et al*., 2014). De modo geral, os programas de treinamento são classificados em duas grandes categorias, o treinamento aeróbico e o treinamento resistido, que diferem quanto às características biomecânicas, metabólicas e hormonais do estímulo imposto (Garber *et al*., 2011).

2.3.1 Treinamento aeróbico versus Treinamento resistido

O treinamento aeróbio (TA) é caracterizado por atividades rítmicas, amplamente realizadas de forma contínua ou intervalada, que envolvem grandes grupos musculares e dependem predominantemente do metabolismo oxidativo para a produção de energia, como corrida, caminhada e natação (Garber *et al*., 2011). Embora seja realizado com ausência de carga externa, o TA favorece a manutenção da DMO (Ma; Wu; He, 2013). Entre as adaptações fisiológicas sistêmicas provenientes desse tipo de treinamento, destacam-se o incremento do consumo máximo de oxigênio (VO_2máx), a otimização do metabolismo muscular e o aumento da capacidade oxidativa (Gormley *et al*., 2008). Além disso, favorece a resistência muscular como resultado da proliferação mitocondrial, do aprimoramento da oxidação de ácidos graxos e a angiogênese, embora exerça influência limitada no tamanho ou força muscular (Prior *et al*., 2015).

Do ponto de vista mecânico, esse tipo de exercício geralmente impõe menor magnitude de deformação óssea, quando comparado ao treinamento resistido, especialmente em modalidades sem impacto. Entretanto o TA promove importantes adaptações sistêmicas, incluindo melhora da perfusão tecidual, aumento da capacidade cardiorrespiratória e modulação do ambiente hormonal e inflamatório, fatores que podem influenciar indiretamente o tecido ósseo (Stucky *et al*., 2018; Tong *et al*., 2019).

Em nível ósseo, evidências indicam que o TA pode estimular a angiogênese, aumentar a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e modular fatores de crescimento, contribuindo para a manutenção da massa e da qualidade óssea, sobretudo por vias sistêmicas. Contudo seus efeitos osteogênicos locais tendem a ser mais modestos, quando comparados a exercícios de alta sobrecarga mecânica, particularmente em modelos de osteopenia ou deficiência estrogênica

(Ocarino *et al*., 2007; Scheele; Nielsen; Pedersen, 2009; Tong *et al*., 2019). A produção de NO, bem como de espécies reativas de oxigênio (ROS), estimuladas pelo exercício, atuam na ativação de mecanismos anti-inflamatórios. O aumento cíclico de ROS está associado à redução de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α (Scheele; Nielsen; Pedersen, 2009). Além disso, o TA estimula a liberação de miocinas, como a IL-6 em seu perfil anti-inflamatório que participam da comunicação músculo-osso (Smith, 1999).

Já o treinamento resistido (TR), caracterizado como um método de exercício que utiliza sobrecarga externa progressiva, requer menos gasto de oxigênio e movimentação cardiorrespiratória e é realizado em sessões intervaladas para impedir fadiga periférica (Gombos *et al*., 2016). O TR utiliza pesos livres, aparelhos de musculação e dispositivos elásticos para gerar sobrecarga mecânica, promovendo ganhos de força e massa muscular e contribuindo para a saúde óssea (Borde; Hortobágyi; Granacher, 2015). As tensões de compressão, tração e torção induzem resposta osteogênica, elevando a DMO e favorecendo a modelagem óssea (Moreira *et al*., 2014). A contração muscular equilibra a atividade de osteoclastos e osteoblastos, influenciando positivamente a remodelação óssea (Bordukalo-Nikšić; Kufner; Vukičević, 2022).

Sob a perspectiva mecanobiológica, o TR promove significativa deformação da matriz óssea, desencadeando cascatas de mecanotransdução (Datta *et al*., 2008; Stewart *et al*., 2020). A carga mecânica reduz a expressão de esclerostina, ativando a via Wnt/β-catenina e estimulando a formação óssea (Robinson *et al*., 2006). Além disso, a contração muscular associada ao TR aumenta a liberação de fatores osteomusculares, como irisina (Kawao *et al*., 2018), IGF-1 (Bordukalo-Nikšić; Kufner; Vukičević, 2022), TGF-β e PGE2 (Bonewald, 2019) e modula o equilíbrio inflamatório (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). O TR pode aumentar a expressão da OPG, o que eleva a relação OPG/RANKL, estabelecendo um ambiente favorável ao anabolismo ósseo (Pereira *et al*., 2020). Esses efeitos tornam o treino resistido uma estratégia relevante para a prevenção e o manejo da osteopenia/osteoporose, especialmente em populações com deficiência estrogênica.

2.3.2 Exercício físico e o tecido ósseo: bases mecanobiológicas

O tecido ósseo é altamente sensível aos estímulos mecânicos gerados, durante o exercício físico, apresentando capacidade adaptativa que permite a manutenção da integridade estrutural e funcional (Robling; Castillo; Turner, 2006). As forças de tensão, compressão e de cisalhamento, associados à pressão de fluxo de fluido e os campos elétricos gerados, durante o

exercício, são capazes de promover modificações na estrutura óssea (Ocarino *et al*., 2007). Essas modificações estão relacionadas a mecanismos que conectam o exercício físico ao osso, através da carga biomecânica que promove estímulo direto do segmento envolvido (Ocarino *et al*., 2007; Stewart *et al*., 2020).

A distinta natureza dos estímulos mecânicos provenientes do exercício, juntamente com as estruturas celulares envolvidas na mecanosensibilidade, como a membrana, citoesqueleto, proteínas de membrana e canais iônicos, implica a integração dos diferentes sinais gerados. Esses estímulos desencadeiam eventos intracelulares, expressos por sinais químicos e ativação de vias de sinalização, incluindo as proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), culminando em alterações na expressão gênica e na síntese de proteínas relacionadas à adaptação e remodelação tecidual (Stewart *et al*., 2020).

O estímulo mecânico resultante de fortes impactos produz elevada taxa de deformação pelo aumento da pressão intracanicular e o incremento na velocidade do fluxo de fluido por meio da matriz óssea (Bergmann *et al*., 2010; Ocarino *et al*., 2007), o que modula a atividade de osteócitos, osteoblastos e células da medula óssea, favorecendo a remodelação (Jaalouk; Lammerding, 2009). Entre os principais mediadores da mecanotransdução destacam-se as integrinas, dímeros transmembranares que atuam como elos ligantes entre o ambiente extracelular e o intracelular e podem ser expressas em células ósseas, como osteócitos, osteoblastos e osteoclastos. A ativação das integrinas promove o recrutamento de vias, como fosforilação de tirosina dependente da quinase de adesão focal (FAK) / proteínas quinases, ativadas por mitógenos (MAPKs) (Datta *et al*., 2008; Katsumi *et al*., 2004), culminando na mobilização intracelular de cálcio e na ativação de fatores osteogênicos como RUNX2 e OSX (Stewart *et al*., 2020). O estímulo mecânico também aumenta a expressão das conexinas, proteínas transmembranares que formam junções comunicantes e ampliam a comunicação intercelular no tecido ósseo (Datta *et al*., 2008; Katsumi *et al*., 2004). Essas proteínas são predominantes em osteoblastos e osteócitos e, sob estímulo mecânico do exercício, a Cx43 destaca-se como a principal conexina expressa para regular a renovação e remodelação óssea (Chang; Xu; Zhang, 2022).

A mobilização de cálcio induz a liberação de PGE2, importante regulador anabólico que reforça a comunicação entre osteócitos e osteoblastos e contribui para a homeostase óssea em resposta à tensão mecânica (Ocarino *et al*., 2007; Stewart *et al*., 2020; Tagliaferri *et al*., 2015). Além disso, a remodelação é parcialmente modulada pelo efeito piezoelétrico do tecido ósseo, no qual tensões mecânicas geram gradientes elétricos que orientam a atividade de osteoblastos e osteoclastos. Conforme a Lei de Wolff, esse fenômeno promove o equilíbrio entre a formação

e a reabsorção (Borde; Hortobágyi; Granacher, 2015; Oladapo *et al*., 2023). Tal propriedade decorre da interação entre o colágeno (matriz orgânica) e a hidroxiapatita (matriz inorgânica), que convertem estímulos mecânicos em sinais elétricos, atraindo osteoblastos para áreas de maior carga e regulando a atividade osteoclástica (Fukada; Yasuda, 1957; Norvell *et al*., 2004).

Ademais, a piezoeletricidade estimula a proliferação celular e a síntese de matriz, durante a regeneração tecidual, desempenhando um papel crucial na manutenção da homeostase do esqueleto (Oladapo *et al*., 2023). A vibração de baixa intensidade e alta frequência também foi associada à preservação da resistência óssea em modelos ovariectomizados (Oxlund *et al*., 2003). Tais estímulos mimetizam as deformações no fluxo do fluido canalicular que ocorrem naturalmente no sistema musculoesquelético pela dinâmica muscular e controle postural, processos que declinam com o envelhecimento (Huang; Rubin; McLeod, 1999). Embora seus benefícios sejam atribuídos majoritariamente à mecanotransdução local, a aplicação corporal da vibração sugere possíveis contribuições sistêmicas adicionais, cujos mecanismos ainda não foram totalmente elucidados (Oxlund *et al*., 2003). Desse modo, embora a adaptação óssea seja classicamente atribuída ao carregamento mecânico local, evidências crescentes demonstram que o exercício físico também exerce efeitos sistêmicos relevantes sobre o metabolismo ósseo (Ocarino *et al*., 2007).

2.3.3 Efeitos sistêmicos do exercício sobre o osso

O tecido ósseo é fortemente influenciado pelo exercício físico, e sua adaptação vai além dos efeitos locais do estímulo biomecânico direto, envolvendo mecanismos sistêmicos que o caracterizam como um importante integrador dos sinais gerados durante e após o exercício (Lombardi *et al*., 2016). Assim, a atividade física exerce efeitos complexos e multifatoriais sobre o tecido ósseo, tanto de forma direta quanto indireta (Ben-awadh *et al*., 2014; Pereira *et al*., 2020). Nesse último caso, a efetividade da atividade física sobre o tecido ósseo é mediada por estimulação endócrina, fatores de crescimento, miocinas e modulação do sistema imunológico (Ocarino *et al*., 2007).

Nesse contexto, os efeitos do treinamento físico sobre o tecido ósseo, mesmo em estruturas não diretamente submetidas a impacto ou tensão mecânica, resultam de uma complexa integração de mecanismos sistêmicos. Esses efeitos envolvem múltiplos eixos biológicos interdependentes, incluindo o eixo vascular, relacionado à perfusão e à angiogênese (Jang; Yoon, 2024); o eixo músculo-osso, mediado pela liberação de miocinas (Jang; Yoon, 2024); o eixo neuroendócrino, associado à modulação do sistema nervoso simpático (Liu *et al*.,

2025); o eixo imune, responsável pela regulação do estado inflamatório basal (Liu *et al*., 2025); e o eixo osteocítico, que atua como principal integrador dos sinais mecânicos e sistêmicos no tecido ósseo (Leser *et al*., 2021).

O eixo vascular desempenha papel central nas adaptações ósseas ao exercício. O aumento do débito cardíaco e a redistribuição do fluxo sanguíneo para tecidos metabolicamente ativos aumentam a perfusão óssea (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Esse incremento eleva o estresse de cisalhamento sobre o endotélio vascular, que, por sua vez, estimula a produção de NO e eicosanoides por osteoblastos e osteócitos, possivelmente por ativação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (Mitsiou *et al*., 2022). O NO atua como potente vasodilatador, melhorando a microcirculação, além de exercer efeitos parácrinos que favorecem a mobilização de células progenitoras endoteliais envolvidas na angiogênese e no reparo vascular e de células-tronco da medula óssea para a circulação sistêmica. Esse acoplamento entre angiogênese e osteogênese contribui para a remodelação óssea mesmo em áreas não expostas diretamente à carga mecânica (Jang; Yoon, 2024). Adicionalmente, o exercício melhora o suprimento de oxigênio tecidual (Ocarino *et al*., 2007) e de nutrientes atendendo às demandas metabólicas ósseas e musculares (Hejazi; Rahimi; Hofmeister, 2025).

Paralelamente, o eixo músculo-osso é ativado pela liberação de miocinas durante a contração muscular. Entre elas, a IL-6 desempenha papel central, apresentando efeito dual, podendo participar tanto de respostas inflamatórias quanto de adaptações metabólicas benéficas, dependendo do contexto fisiológico. Sua elevação transitória exerce efeitos predominantemente anti-inflamatórios, ao induzir IL-10 e IL-1ra (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019), as quais reduzem a expressão de IL-1β e TNF-α, contribuindo para a regulação do eixo RANKL/OPG e, consequentemente, do balanço entre reabsorção e formação óssea (Zeng *et al*., 2015). A produção de IL-6 é fortemente induzida pelo tempo, intensidade e tipo de contrações musculares, mas também pode ser impulsionada pelo aumento prévio do TNF-α (Zehra *et al*., 2026). Além disso, a IL-6 participa da adaptação esquelética ao exercício, estando envolvida na modulação da inervação simpática do tecido ósseo e no aumento do osso trabecular (Gadomski *et al*., 2022). Outras miocinas induzidas pelo exercício, como a irisina, também, exercem efeitos osteogênicos, ao estimular a diferenciação osteoblástica e modular a osteoclastogênese, o que reforça o papel do músculo como órgão endócrino com impacto direto sobre o metabolismo ósseo (Pereira *et al*., 2022).

O eixo neuroendócrino também contribui significativamente para as adaptações ósseas ao exercício. A ativação do eixo hipotálamo-hipófise resulta na liberação do hormônio do crescimento (GH), cujos efeitos anabólicos são mediados, em grande parte, pelo IGF-1

(Kanaley *et al*., 2001; Ocarino *et al*., 2007). Os níveis de GH aumentam, após o exercício, sendo as maiores elevações observadas em exercícios de intensidade moderada à alta e com curtos intervalos de recuperação, estimulando a produção hepática de IGF-1 e favorecendo sua síntese local no tecido ósseo (Kraemer; Ratamess, 2005). O IGF-1, também produzido pelas células ósseas, é o fator de crescimento mais abundante da matriz óssea e estimula a expressão gênica induzida pela atividade muscular, a diferenciação osteoblástica, a síntese de colágeno e a formação óssea em níveis local e sistêmico (Tagliaferri *et al*., 2015).

Adicionalmente, o exercício ativa o sistema nervoso simpático, que, de forma integrada ao NO, modula o tônus vascular e a liberação de células progenitoras medulares, facilitando seu efluxo a partir dos nichos medulares (Imai; Matsusue, 2002). Além disso, o tônus simpático também exerce influência sobre o equilíbrio entre osteogênese e osteoclastogênese (Liu *et al*., 2025), favorecendo adaptações ósseas positivas em intensidades moderadas de exercício. Um estudo com roedores demonstrou que o exercício moderado, por meio de uma expansão dependente de IL-6 das fibras nervosas colinérgicas simpáticas, correlacionou-se com o aumento do osso trabecular (Gadomski *et al*., 2022). Contudo, em exercícios de alta intensidade, o aumento excessivo da atividade simpática pode reduzir a perfusão óssea, uma vez que o fluxo sanguíneo é desviado para os músculos esqueléticos ativos. Portanto a perfusão óssea varia em ampla faixa, durante o exercício, sendo modulada principalmente por quimiorreceptores (Aini Sahrir; Kiew Ooi, 2018).

Outro componente sistêmico importante é o eixo imune. Existe uma interdependência funcional entre o osso e o sistema imune, de modo que a inflamação representa um determinante central do metabolismo ósseo (Terashima; Takayanagi, 2018). O exercício físico induz uma resposta inflamatória aguda, porém o treinamento crônico reduz o estado inflamatório basal, promovendo um ambiente sistêmico mais favorável à manutenção da massa óssea (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Enquanto exercícios de intensidade moderada aprimoram a função de monócitos, neutrófilos, macrófagos e células natural killer, o treinamento extenuante pode resultar em imunossupressão, como observado em atletas de alto nível (Zhang; Zhang, 2017). Assim, a modulação inflamatória induzida pelo exercício influencia diretamente a diferenciação e a atividade das células ósseas (Terashima; Takayanagi, 2018).

Por fim, o eixo osteocítico exerce papel central na integração da resposta ao exercício (Leser *et al*., 2021). Os osteócitos atuam como células sensoras e reguladoras, respondendo tanto a estímulos mecânicos locais quanto sistêmicos, por meio da secreção de mediadores como fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23), NO e IGF-1(Chen; Senda; Kubo, 2015; Keller; Kneissel, 2005; Leser *et al*., 2021). O FGF23, em particular, regula a homeostase do

fosfato no eixo osso-rim, influenciando processos fundamentais como mineralização óssea e metabolismo energético (Chen; Senda; Kubo, 2015).

De forma integrada, esses mecanismos demonstram que o exercício físico influencia o remodelamento ósseo mesmo em regiões não diretamente submetidas à carga mecânica. O osso, além de responder a estímulos sistêmicos, atua como órgão ativo na regulação da homeostase sistêmica (Leser *et al*., 2021). Ademais, a amplitude das respostas resultantes do exercício pode ser influenciada por fatores como o tipo e duração do exercício (Petersen; Pedersen, 2005) idade (Xu *et al*., 2016) e sexo (Rantalainen *et al*., 2015).

2.3.4 Efeitos do Treinamento físico na osteopenia

A otimização da condição óssea deve ser uma das principais preocupações ao longo da vida. A prática regular de exercício físico constitui uma estratégia não farmacológica essencial, capaz de atenuar ou mesmo reverter parcialmente a perda óssea associada ao envelhecimento e à deficiência estrogênica (Riaz *et al*., 2024). A atividade física regular comprovou neutralizar as alterações relacionadas à idade, promovendo melhor saúde musculoesquelética e qualidade de vida geral (Kang *et al*., 2025). O exercício físico pode efetivamente inibir ou até mesmo reverter o declínio adicional na DMO e consequentemente retardar a perda óssea (Varahra *et al*., 2018), pois regula a biomecânica óssea e atua nas vias moleculares do remodelamento ósseo envolvendo todos os tipos celulares de tecido ósseo (Pagnotti *et al*., 2019).

Os efeitos do exercício sobre o tecido ósseo na osteopenia assumem relevância particular por atuarem sobre vias comprometidas pelo hipoestrogenismo. Evidências indicam que o exercício físico pode modular a sensibilidade tecidual aos esteroides sexuais, aumentando a expressão de ERα e ERβ no músculo esquelético, o que pode potencializar a resposta ao estrogênio residual (Wiik *et al*., 2005, 2008). Além disso, o estímulo mecânico pode ativar o ERα por vias parcialmente independentes do ligante, o que pode atenuar parcialmente os efeitos da deficiência estrogênica sobre o metabolismo ósseo (Galea *et al*., 2013).

No nível molecular, o exercício físico exerce efeitos diretos sobre as principais vias de regulação da remodelação óssea. A ativação da via Wnt/β-catenina, induzida por estímulos mecânicos e sistêmicos, promove a expressão de genes osteogênicos (Robinson *et al*., 2006). Simultaneamente, ocorre supressão de vias adipogênicas, como aquelas mediadas por receptores nucleares ativados por proliferadores de peroxissomos γ (PPAR-γ) e modulação do eixo RANKL/OPG, resultando em inibição da osteoclastogênese e redução da reabsorção óssea (Singulani *et al*., 2017). Dessa forma, o exercício desloca o balanço celular e molecular para

um perfil predominantemente osteogênico, aspecto particularmente relevante em condições de perda óssea (Keller; Kneissel, 2005).

Entre as modalidades de treinamento, tanto o TR quanto o TA apresentam efeitos benéficos, embora por mecanismos parcialmente distintos e complementares (Borde; Hortobágyi; Granacher, 2015). Ensaios prospectivos indicam que o TR também pode induzir acréscimos de massa óssea, específicos do local e em nível sistêmico, podendo ser considerado uma contramedida para a osteopenia (Stringhetta-Garcia *et al*., 2016). Esse tipo de treinamento está relacionado à redução de marcadores de reabsorção óssea, como o telopeptídeo C-terminal de colágeno tipo I (CTX) e de inibidores da formação óssea, como a esclerostina (SOST) (Gombos *et al*., 2016), além do aumento de marcadores osteoblásticos, incluindo ONC e OPG. Esses efeitos refletem melhora da microarquitetura e da resistência óssea (Stringhetta-Garcia *et al*., 2016).

Ao mesmo tempo, o TR pode promover aumento da massa muscular e influenciar a liberação de miocinas e fatores de crescimento como a IL-6, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF2) e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), que exercem efeitos endócrinos sobre o tecido ósseo, favorecendo a osteogênese tanto em sítios locais quanto distantes (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Já o TA, tanto em modelos experimentais de osteopenia como em humanos, é amplamente utilizado por promover adaptações positivas cardiovasculares, metabólicas e musculoesqueléticas (Stucky *et al*., 2018). O TA atua como um regulador sistêmico da homeostase osteoimune, integrando respostas metabólicas, endócrinas e imunológicas que favorecem a formação óssea e a preservação da DMO (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Essa modalidade está associada à redução da inflamação crônica de baixo grau, característica da osteopenia e da deficiência estrogênica, por meio da diminuição de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β e TNF-α, e aumento de mediadores anti-inflamatórios, como IL-10 e IL-1ra (Allen; Sun; Woods, 2015). O treinamento físico também modula a ativação de inflamossomas, relevante em condições de osteopenia e osteoporose, nas quais o aumento da inflamação contribui para a reabsorção óssea (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). A intensidade e a duração do exercício irão determinar as respostas imunológicas produzidas (Nunes-Silva *et al*., 2014). Além disso, o TA melhora a função de células imunes, regula o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e contribui para o controle do estresse metabólico, fatores que impactam diretamente o metabolismo ósseo (Suarez-Bregua; Guerreiro; Rotllant, 2018).

Outro aspecto relevante é que os efeitos osteogênicos do exercício não se restringem aos ossos diretamente expostos à carga mecânica. Evidências experimentais demonstram que

tanto o TR quanto o TA são capazes de promover adaptações favoráveis em sítios esqueléticos distantes da região submetida ao estímulo mecânico. Em estudo conduzido com camundongos machos hígidos, observou-se que ambos os protocolos de treinamento promoveram aumento da atividade osteoblástica, melhora da DMO e do volume trabecular do osso alveolar, além de modular positivamente a expressão de genes relacionados à formação óssea, incluindo aumento de IGF-1, RUNX2 e OPG e redução da razão RANKL/OPG (Pereira *et al*., 2020). Esses achados reforçam a importância dos mecanismos sistêmicos previamente discutidos.

No contexto da osteopenia induzida por deficiência estrogênica, o exercício físico também exerce efeitos sobre a vascularização (Tong *et al*., 2019), a mobilização de células progenitoras e a modulação do sistema imune, contribuindo para a restauração do equilíbrio entre formação e reabsorção óssea (Lombardi; Ziemann; Banfi, 2019). Além disso, pode atenuar a osteoclastogênese, por meio da redução da ação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores como PGE2, bem como pela regulação positiva de fatores como TGF-β, que inibem a atividade osteoclástica e a taxa de apoptose, influenciando positivamente na perda óssea com a idade (Riggs; Khosla; Melton, 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a influência dos treinamentos aeróbico e resistido em parâmetros associados ao remodelamento do osso alveolar, na ausência e na presença de carga mecânica induzida pela movimentação dentária ortodôntica (MDO), em condições de deficiência estrogênica em camundongos fêmeas ovariectomizadas (OVX).

3.2 Objetivos específicos

a) Verificar os efeitos da ovariectomia sobre o metabolismo ósseo em camundongos fêmeas, caracterizando o modelo experimental de deficiência estrogênica.
b) Avaliar a movimentação ortodôntica e a microarquitetura do osso trabecular alveolar por microtomografia computadorizada (micro-CT) nas hemimaxilas, comparando o lado sem carga mecânica (controle) e o lado submetido à carga mecânica induzida pela MDO, por meio da análise da DMO, volume ósseo, fração de volume ósseo, espessura, número e separação trabecular, bem como do índice de modelo estrutural.
c) Comparar os efeitos do treinamento aeróbico e do treinamento resistido sobre a remodelação óssea nas hemimaxilas — lado controle (sem carga) e lado MDO (com carga mecânica) — em animais OVX e SHAM, por meio da quantificação de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos.
d) Avaliar o impacto do treinamento aeróbico e resistido sobre a expressão gênica de marcadores osteogênicos e osteoclastogênicos nas hemimaxilas (lado controle e lado OTM), incluindo RUNX2, OPG, RANKL e a razão RANKL/OPG.
e) Avaliar a influência do treinamento aeróbico e resistido sobre o perfil inflamatório sistêmico, por meio da análise do equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, expresso pelas razões IL-1β/IL-10, IL-6/IL-10 e TNF-α/IL-10.

SEGUNDA PARTE

Artigo 1 - Redigido conforme norma do periódico científico - Versão preliminar	
Título do artigo:	Aerobic and resistance exercise remodel bone quality beyond mechanical loading in an estrogen-deficient tooth movement model
Autores:	Juliana Cristina dos Reis Canaan Pedro Gustavo Machado Luciana Botelho Ribeiro Ivam Moreira de Oliveira Júnior Rafael Scaf de Molon Eric Francelino Andrade Soraia Macari Luciano José Pereira
Periódico:	Revista Bone
ISSN	
DOI	

ARTIGO 1 - AEROBIC AND RESISTANCE EXERCISE REMODEL BONE QUALITY BEYOND MECHANICAL LOADING IN AN ESTROGEN-DEFICIENT TOOTH MOVEMENT MODEL

Normas da Revista Cientifica: Bone

Juliana Cristina dos Reis Canaan[a]
Pedro Gustavo Machado[a]
Luciana Botelho Ribeiro[a]
Ivam Moreira de Oliveira Júnior[b]
Rafael Scaf de Molon[c]
Eric Francelino Andrade[d]
Soraia Macari[e]
Luciano José Pereira[d*]

[a]Department of Veterinary Sciences, Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brazil;
[b]Department of Veterinary Medicine, Centro Universitário de Lavras - UNILAVRAS, Lavras, MG, Brazil;
[c]Department of Diagnostic and Surgery, School of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brazil;
[d] Department of Medicine, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brazil;
[e]Department of Restorative Dentistry, Dental School, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG, Brazil.

[*]**Corresponding Author information:**
Luciano J. Pereira, PhD - Full Professor
Department of Medicine - Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brazil
Email: lucianojosepereira@ufla.br Phone: +55 (35) 98423-9292

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of resistance and aerobic training on maxillary alveolar bone quality and orthodontic tooth movement (OTM) in ovariectomized (OVX) mice. *Design:* Fifty-four female C57BL/6 mice underwent ovariectomy or sham surgery and were allocated into untrained, resistance training, or aerobic training groups. Resistance training consisted of ladder climbing with load, whereas aerobic training was performed on a treadmill. Both protocols were conducted for eight weeks, and OTM was induced during the final 14 days.

Results: Both exercise modalities improved alveolar bone parameters compared with untrained OVX animals. Resistance training promoted greater increases in bone mineral density, bone volume, and bone volume fraction, whereas aerobic training reduced trabecular separation ($p<0.05$). OTM was attenuated by both exercise protocols, with the greatest reduction observed in aerobically trained animals. In contrast, untrained OVX mice exhibited the greatest tooth displacement ($p<0.05$). Untrained OVX animals, particularly those subjected to OTM, showed increased RANKL expression and a higher RANKL/OPG ratio, whereas exercise increased OPG expression and attenuated this pro-resorptive profile ($p<0.05$). Exercise also reduced osteoclast numbers and increased osteoblastic activity and matrix organization in maxillary bone. At the systemic level, untrained OVX animals exhibited a pro-inflammatory profile, partially attenuated by resistance training.

Conclusion: both aerobic and resistance training improved alveolar bone quality and reduced mechanically induced OTM in OVX mice, suggesting that physical exercise may represent a non-pharmacological strategy to mitigate estrogen deficiency–related alveolar bone deterioration.

Keywords: Preclinical study; estrogen deficiency; exercise; bone diseases; osteoporosis.

HIGHLIGHTS

- Exercise improved alveolar bone quality in OVX mice.
- Resistance training increased BMD, BV, and BV/TV in maxillary bone.
- Aerobic exercise reduced orthodontic tooth movement in OVX mice.
- Exercise reduced osteoclastogenesis and improved OPG/RANKL balance.
- Physical training attenuated estrogen deficiency–induced bone loss.

1. INTRODUCTION

Osteopenia and osteoporosis are major public health concerns that can compromise autonomy and quality of life [1]. Sex steroids, particularly estrogen, play a central role in bone metabolism and in the maintenance of bone mass [2]. Estrogen exerts protective effects on bone by inhibiting pro-osteoclastic cytokines, such as IL-1, IL-6, and TNF-α [3], inducing osteoclast apoptosis [4], and modulating the RANKL/OPG axis through increased OPG expression and reduced RANKL levels [5]. In addition, estrogen promotes osteoblastic activity and survival, and antiapoptotic effects on osteoblasts and osteocytes [6], decreases osteoclast resorptive function by reducing the secretion of lysosomal enzymes and proteases [7], and stimulates bone matrix synthesis [3]. Consequently, the decline in estrogen levels during menopause triggers immune and skeletal alterations that contribute substantially to postmenopausal bone loss [8].

Postmenopausal osteoporosis is associated with reduced bone mass throughout the skeleton, including the alveolar bone [9, 10]. The alveolar bone surrounds and supports the teeth and is essential for dental stability and oral function [11]. Skeletal deterioration may negatively affect several dental procedures and conditions, including implant osseointegration, orthodontic tooth movement (OTM), tooth extraction, and periodontal health, potentially leading to increased tooth mobility and tooth loss [12]. Oral health, particularly masticatory function, is also a key determinant of quality of life due to its physical, social, and psychological implications [13]. With increasing life expectancy, many postmenopausal women seek both pharmacological therapies for osteoporosis [14] and dental treatments aimed at maintaining oral function and aesthetics [15]. Conventional strategies for preventing and managing estrogen deficiency-related bone loss include bisphosphonates, monoclonal antibody against RANKL, anti-sclerostin antibodies, anabolic agents such as teriparatide and abaloparatide, and menopausal hormone therapy [16]. While effective, these therapies may influence alveolar bone remodeling and alter biological responses to dental interventions [15]. Moreover, some are associated with potential adverse effects, such as atypical fractures, delayed bone healing, osteonecrosis of the jaw, and thromboembolic events [14, 16, 17]. These limitations highlight the relevance of complementary non-pharmacological strategies that are both effective and safe.

Regular physical exercise improves musculoskeletal health and overall quality of life [18]. Bone tissue is highly responsive to exercise, and this response involves not only local mechanical loading but also systemic and integrative mechanisms that extend beyond classical mechanotransduction [19]. Exercise activates endocrine and paracrine pathways involved in bone remodeling, including the growth hormone/insulin-like growth factor 1 (IGF-1) axis. IGF-1 promotes osteoblast differentiation, matrix production, and mineralization by upregulating

osteogenic genes such as RUNX2, SPP1, and BGLAP, while suppressing inhibitors of bone formation such as sclerostin [20]. Mechanical loading may also induce local IGF-1 splice variants, including mechano-growth factor, which contributes to osteoblast proliferation, migration, and differentiation via pathways such as PI3K/Akt and MAPK [21, 22]. However, exercise-induced skeletal adaptations are likely mediated by multiple interacting mechanisms rather than by a single molecular pathway.

Under estrogen-deficient conditions, physical training may further influence bone remodeling by modulating vascularization [8], inflammatory responses, and systemic immune adaptations [8, 23]. Exercise affects sympathetic activity and nitric oxide-dependent pathways, which regulate vascular tone and the mobilization of bone marrow progenitor cells [24]. In addition, physical activity may counteract increased osteoclastogenesis [25] by reducing the synthesis or activity of IL-1, IL-6, TNF-α, and PGE2, while enhancing regulatory factors such as TGF-β, an inhibitor of bone resorption that acts directly on osteoclasts [18, 26]. These effects suggest that exercise may benefit not only mechanically loaded skeletal sites but also distant bones affected by systemic metabolic and inflammatory changes.

In a previous study from our group, aerobic and resistance training in healthy adult male mice increased the expression of IGF-1, RUNX2, and OPG genes, and reduced IL-6 expression and the RANKL/OPG ratio in maxillary bone, indicating that exercise can modulate bone remodeling even in regions not directly subjected to mechanical loading [27]. Despite extensive research on skeletal response to physical activity, the effects of exercise on distant skeletal sites such as the maxillary alveolar bone, under osteopenic or osteoporotic conditions remain insufficiently understood. Furthermore, no studies to date have evaluated the influence of physical training on OTM under estrogen-deficient conditions. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of aerobic and resistance training on alveolar bone remodeling and OTM in an estrogen-deficient mouse model.

2. METHODOLOGY

2.1 Experimental animals

This study included 54 female C57BL6/J mice at 7 weeks old, with an initial body weight of 18 g. The study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals in Teaching, Research, Training and/or Extension of the Federal University of Lavras (UFLA), under protocol number 013/21. Animals were obtained from the Central Animal Facility of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) and housed at the Sectorial Animal Facility of the Department of Nutrition at the Federal University of Lavras (UFLA) under standard conditions

of ideal temperature (22 ± 2°C), humidity (45 ± 15%), and lighting (12/12-hour light–dark cycle). Commercial food and water were provided *ad libitum*. All procedures were conducted in accordance with the ARRIVE 2.0 guidelines for animal research. Only female mice were used due to the estrogen-deficiency model induced by ovariectomy, which mimics postmenopausal osteopenia.

2.2 Acclimation and group division

Animals were randomly assigned (using a computer-generated randomization sequence) to two groups: one group was subjected to ovariectomy (OVX), which involved bilateral removal of the ovaries, while the other half underwent a similar surgical approach, where ovaries were exposed and repositioned (SHAM). Two weeks after surgeries, animals were acclimated to either ladder-climbing or treadmill running [27].

For allocation into the final experimental groups, animals were matched based on physical performance. To achieve this, two fatigue test protocols were performed for each animal. Initially, an incremental test was conducted to determine maximal load or running velocity. Forty-eight hours later, a constant-load test was performed at 80% of the previously determined maximum, according to the ladder-climbing or treadmill-running protocol, respectively. In the incremental ladder-climbing test, a fabric pouch containing an initial standardized load of 5 g was attached to the tail of each animal, and an additional 1 g was added after each successful climb until animal reached concentric failure and could no longer complete the ascent. For the incremental treadmill test, animals were placed on a motorized treadmill and began running at 6 m/min, with speed increased by 3 m/min every 3 minutes until exhaustion, defined as the inability to maintain pace and remaining at the end of the treadmill for 10 seconds. The maximal load carried during a complete climb and the maximal running velocity achieved were recorded for each animal.

In the constant-load endurance test, animals performed ladder climbing at 80% of their maximal load and treadmill running at 80% of their maximal velocity until exhaustion. Testing sessions were conducted at weeks 0, 4, and 8. The first two assessments were used to establish baseline physical capacity and to adjust the training protocols, whereas the final assessment was used to evaluate performance changes over time. Workload for both ladder climbing and treadmill running was calculated according to a previously established protocol [27].

Based on initial performance, mice were allocated into six groups with comparable baseline physical capacity. Within each experimental condition (OVX and SHAM), animals were further subdivided into untrained, resistance training (ladder climbing), and aerobic

training (treadmill running) groups. The untrained group consisted of animals that underwent performance testing on both the ladder and treadmill, allowing longitudinal comparison of performance changes throughout the experimental period. Investigators responsible for outcome assessments were blinded to group allocation. Sample size was determined based on previous studies [27] and supported by power analysis (power = 80%, $\alpha = 0.05$) to detect differences in bone mineral density (BMD) parameters assessed by micro-computed tomography (micro-CT) as the primary outcome to detect significant differences between groups. No animals were excluded from the analysis, and all completed the experimental protocol. The study timeline is presented in Figure 1.

2.3 Training protocols

Resistance training was performed using an MDF ladder (90 cm × 14 cm, 1 cm rung spacing, 80° inclination) equipped with a resting platform at the top. Aerobic training was conducted on a motorized treadmill (AVS Projetos, São Carlos, SP, Brazil) maintained at a 5° incline. Prior to the initiation of the training, exercise intensity was individualized based on each animal's performance in the incremental tests. During weeks 1–4, training intensity progressed from 60%, to 80% of maximal load or velocity, combined with 60%, 70%, 80%, and 90% of the baseline workload determined at week 0. During weeks 5–8, training intensity was recalibrated based on the reassessment performed at week 4 and applied using the same relative progression scheme [27]. Aerobic training was performed five times per week, whereas resistance training was performed three times per week. Animals were euthanized 24 hours after the final training session.

2.4 Orthodontic appliance installation and maintenance protocol

Orthodontic appliance installation was performed as previously described [27–30]. Briefly, mice were anesthetized via intraperitoneal injection of xylazine (10 mg/kg) and ketamine (80 mg/kg). A nickel-titanium open coil spring (0.25 x 0.76 mm; Lancer Orthodontics, San Marcos, CA) was fixed using light-cured resin (Transbond, Unitek / 3M, Monrovia, CA) connecting the right first molar to the maxillary central incisors (OTM side).

The applied force was calibrated using a tension gauge (Shimpo Instruments, Ithaca, IL, USA) to deliver a constant mesial force of 0.35 N. No reactivation was performed during the experimental period. The contralateral (left) side, without appliance placement, served as an internal control. The appliance was maintained for the final 14 days of training protocol until euthanasia.

2.5 Euthanasia and tissue collection

At the end of the experimental period (91 days), animals were euthanized by intraperitoneal administration of xylazine (8 mg/kg) and ketamine (100 mg/kg), followed by decapitation using an appropriate guillotine, performed by a licensed veterinarian to minimize suffering. Both sides of the maxilla (OTM and control), as well as blood and uterus samples, were carefully collected for subsequent analyses. Uterine weight was recorded to confirm the effectiveness of ovariectomy. All procedures were conducted in accordance with institutional and international guidelines for animal welfare.

2.6 Micro-CT analysis (micro-computed tomography)

Maxillae were fixed in 10% buffered formalin (pH 7.4) for 48 h and subsequently stored in 70% ethanol. Specimens were scanned using a micro-computed tomography system (Micro-CT) (Skyscan 1272; Bruker, Kontich, Belgium). high-resolution images were acquired with an isotropic voxel size of 18 µm (50 kV, 0.5 mm aluminum filter, 0.5° rotation angle). The region of interest (ROI) was defined using contouring methods as previously described [27, 31].

Trabecular bone morphometry was assessed in the furcation region of the first molar and included bone mineral density (BMD g/cm³), bone volume (BV mm³), bone volume fraction (BV/TV%), trabecular thickness (Tb.Th mm), trabecular number (Tb.N mm^{-1}), trabecular separation (Tb.Sp mm), and structural model index (SMI). Analyses were performed using CT Analyser software (Bruker, Billerica, MA, USA).

OTM was quantified using micro-CT images by measuring the distance between the cementoenamel junction (CEJ) of the first and second molars on the experimental side relative to the corresponding teeth on the contralateral control side within the same animal.

2.7 Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)

Alveolar bone samples adjacent to the first molars were collected and stored at −80 °C until analysis. Total RNA was extracted using TRIZOL™ reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) and RNA integrity was assessed using the Qubit™ RNA IQ assay kit (Life Technologies, Eugene, OR, USA)[31]. Complementary DNA (cDNA) was synthesized from total RNA using the Platus Transcriber RNase H– cDNA First Strand Kit (Sinapse Biotechnology, Maranhão, SP, Brazil) according to the manufacturer's instructions.

Gene expression was quantified by real-time PCR using a StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and SYBR™ Green Universal Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The thermal cycling protocol

consisted of an initial denaturation at 95 °C for 10 min, followed by 40 amplification cycles (94 °C for 1 min, 58 °C for 1 min, and 72 °C for 2 min). A melting curve analysis was performed after amplification to confirm product specificity [32]. Primer sequences are provided in Table 1.

Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as the reference gene due to its low variability across experimental groups and stable cycle threshold (Ct) values. In the OTM group, mean Ct values for GAPDH were 18.41 ± 0.59 (untrained OVX), 18.07 ± 1.08 (untrained SHAM), 17.02 ± 0.35 (ladder climbing OVX), 17.35 ± 1.02 (ladder climbing SHAM), 18.12 ± 0.88 (treadmill OVX), and 18.27 ± 0.90 (treadmill SHAM). In the control group, mean Ct values were 18.16 ± 0.34(untrained OVX), 20.63 ± 1.86 (untrained SHAM), 19.23 ± 0.21 (ladder climbing OVX), 19.09 ± 0.23 (ladder climbing SHAM), 18.74 ± 0.16 (treadmill OVX), and 17.28 ± 0.05 (treadmill SHAM), confirming its suitability for normalization. Relative gene expression was calculated using the $2^{-}\Delta\Delta Ct$ method based on the mean Ct values of duplicate reactions and normalized to GAPDH. For ΔΔCt calculations, the contralateral side without orthodontic tooth movement served as the initial calibrator, and results were expressed as fold changes relative to the control [33].

2.8 Histological and Histochemical Analyses

Maxillae were dissected and fixed in 10% buffered formalin (pH 7.4) for 48 h. Samples were decalcified in 14% EDTA (pH 7.4) for 21 days, followed by standard histological processing (dehydration, clearing, infiltration, and paraffin embedding). Sagittal sections with 4 μm thick were obtained, including the mesial and distal roots of the first and second molars, the third molar, and adjacent periodontal structures such as the periodontal ligament and alveolar bone. For each animal, at least four serial vertical sections were analyzed.

Sections were stained for tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO) to identify osteoclasts, and with hematoxylin and Masson's trichrome (EasyPath, Indaiatuba, SP) to evaluate osteocytes and osteoblasts, respectively. Osteoclasts were quantified on the mesial side of the distobuccal root of the first molar (compression side) in five consecutive microscopic fields (400×) across four sections per animal. These cells were identified as multinucleated TRAP-positive cells located along the bone surface. This region corresponds to an area of bone resorption associated with compressive loading of the periodontal ligament and associated osteoclast differentiation [28]. Osteoblasts were quantified on the distal surface of the same root (tension side) and identified as cuboidal or rounded cells with basophilic cytoplasm aligned along the bone surface in Masson's trichrome-stained

sections [34]. This region is subjected to tensile force that promote osteoblast differentiation and bone formation [35]. Osteocyte density was assessed in the furcation region using hematoxylin and eosin (H&E)-stained sections. Osteocytes embedded within lacunae were counted within a standardized, square-defined area using ImageJ software [36]. Mean values were calculated per animal and expressed as cells per μm^2 [34–36]. All analyses were performed on both the experimental (OTM) and contralateral control sides.

2.9 Cytokine Balance (Pro-/Anti-inflammatory Ratios)

Blood samples were collected at euthanasia by decapitation to ensure adequate volume. Samples were allowed to clot at room temperature for 30 min and subsequently centrifuged at 3,000 rpm for 10 min to obtain serum. Serum aliquots were stored at −80 °C until analysis. Serum concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines, including interleukin IL-1β, IL-6, tumor necrosis factor-α (TNF-α), and IL-10, were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), according to the manufacturer's instructions. Absorbance was measured at 450 nm using a microplate spectrophotometer, and cytokine concentrations were calculated from standard curves and expressed as picograms per milliliter (pg/mL). To evaluate systemic inflammatory profile, IL-1β/IL-10, IL-6/IL-10, and TNF-α/IL-10 ratios were calculated [37]. Higher ratios were interpreted as indicative of a pro-inflammatory, whereas lower ratios reflected a shift toward an anti-inflammatory state.

2.10 Statistical analysis

Data are presented as mean ± standard deviation, along with descriptive statistics (mean, median, minimum, and maximum values). Group comparisons were performed using two-way analysis of variance (Two-way ANOVA) or three-way analysis of variance (Three-way ANOVA), followed by Student–Newman–Keuls (SNK) or Tukey post hoc tests, as appropriate. Two-way repeated-measures ANOVA was used for longitudinal performance data. A paired t-test was applied to compare OTM between the experimental and contralateral control sides within the same animal. Data were analyzed using GraphPad Prism (version 5.01; GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The significance level was set at $p < 0.05$. The individual animal was considered the experimental unit for all analyses.

3. RESULTS

3.1 Body characteristics and physical performance

The effectiveness of ovariectomy was confirmed by uterine atrophy, as OVX animals exhibited significantly lower uterine weight compared with SHAM groups across all experimental conditions ($p<0.05$). Body mass increased at 4 weeks in all groups, followed by stabilization or reduction at 8 weeks. OVX untrained animals showed the greatest increase in body mass (+1.77 g), whereas OVX animals subjected to treadmill training exhibited a reduction (−1.40 g). In SHAM animals, both treadmill and ladder-climbing training were also associated with reductions in body mass (−0.91 g and −0.54 g, respectively), while untrained animals showed a slight increase (+0.57 g). At 8 weeks, body mass differed among groups, with lower values generally observed in trained animals ($p<0.05$). Physical performance, assessed by workload (J), increased over time in response to both training protocols ($p<0.05$). OVX animals subjected to treadmill training exhibited the greatest improvement (+13.87 J), followed by ladder climbing (+7.37 J), whereas untrained OVX animals showed a decline (−2.66 J). A similar pattern was observed in SHAM animals, with increases in treadmill (+8.16 J) and climbing (+5.90 J) groups and a reduction in untrained animals (−2.13 J). At 8 weeks, workload was significantly higher in trained groups compared with untrained controls (Supplemental table 1).

3.2 Micro-CT Analysis

Mean maxillary BMD was significantly reduced in untrained OVX animals ($p < 0.05$; Figure 2). Resistance training (ladder climbing) significantly increased BMD compared with untrained OVX animals ($p < 0.05$), whereas no significant improvements was observed with aerobic training. BV and BV/TV were significantly higher in the ladder-climbing group compared with the treadmill-trained group. Tb.Sp was significantly greater in untrained OVX animals compared with both OVX animals subjected to aerobic training ($p < 0.05$) and untrained SHAM controls ($p < 0.01$). These findings indicate that estrogen deficiency impairs trabecular microarchitecture, whereas physical exercise partially attenuates these alterations (Figure 2).

OTM was significantly reduced in OVX animals subjected to both resistance and aerobic training ($p < 0.05$; Figure 2) compared with the untrained OVX animals. The untrained OVX group exhibited the greatest tooth displacement, confirming that estrogen deficiency accelerates OTM. Although both training modalities attenuated this effect ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively), aerobic training resulted in the lowest tooth displacement ($p < 0.001$).

Significant main effects of OVX ($p < 0.001$) and training ($p < 0.001$) were observed. SMI, Tb.Th, and Tb.N did not differ significantly among groups (Figure 3).

3.3 qPCR Maxillae

Gene expression analysis revealed that both OVX and OTM significantly influenced markers of bone remodeling (Figure 4, A–D). RANKL expression was increased in OVX animals subjected to OTM, whereas both resistance and aerobic training reduced this expression ($p < 0.05$). Conversely, physical training increased OPG expression in OVX groups. OPG levels were significantly lower in the OTM side compared with the contralateral control side ($p < 0.05$), indicating a shift toward a pro-resorptive environment ($p < 0.05$). Training attenuated this reduction. In SHAM animals, treadmill training increased OPG expression compared with untrained controls ($p < 0.05$). The RANKL/OPG ratio, a critical indicator of the balance between bone resorption and formation, was markedly elevated in OVX animals, particularly in the untrained group subject to OTM ($p < 0.0001$), as was significantly reduced by both training protocols ($p < 0.05$). Finally, RUNX2 expression was higher in untrained SHAM animals compared with trained groups and the control side ($p < 0.05$).

3.4 Maxillae Histochemistry

Histochemical analysis demonstrated that both estrogen deficiency and physical training significantly influenced bone cellular dynamics during OTM (Figure 5, A-U). Osteoclast numbers were significantly increased in untrained OVX animals and, to a lesser extent, in SHAM animals (Figure 5, A; $p < 0.05$), indicating enhanced bone resorption under estrogen-deficient condition. OTM further increased osteoclast numbers across all OVX groups, reflecting the positive mechanical stimulus of tooth movement on alveolar bone resorption. Both resistance and aerobic training significantly reduced osteoclast number in OVX (Figure 5, A; $p < 0.05$) and SHAM animals ($p < 0.01$). Notably, the SHAM ladder-climbing group subjected to OTM exhibited fewer osteoclasts than the corresponding control side.

In contrast, osteoblast numbers showed the opposite pattern (Figure 5H). Both training modalities increased osteoblast counts in OVX animals compared with untrained controls ($p < 0.05$). Resistance training further increased osteoblast numbers compared with both untrained conditions and control sides in SHAM and OVX animals ($p < 0.05$). Masson's trichrome staining (Figure 5, I-N) revealed improved bone matrix organization and increased osteoblastic activity in trained groups, particularly in the resistance training group, suggesting a more

pronounced anabolic effect during OTM. The number of osteocytes did not differ significantly among the evaluated groups.

3.5 Cytokine Balance (Pro-/Anti-inflammatory Ratios)

Ovariectomy induced consistent alterations in systemic inflammatory balance, favoring a pro-inflammatory profile. The IL-1β/IL-10 ratio was significant higher in OVX animals compared with SHAM controls ($p<0.05$). Exercise-trained groups showed lower values than untrained counterparts, indicating partial attenuation of this imbalance.

More pronounced differences were observed for the IL-6/IL-10 ratio. OVX animals exhibited higher values than SHAM animals ($p<0.05$), indicating a relative increase in IL-6 under estrogen-deficient conditions. Among OVX animals, resistance training resulted in the lowest ratio, whereas aerobic training showed the highest values, particularly in OVX animals, suggesting a modality-dependent effect. No statistically significant differences were observed for the TNF-α/IL-10 ratio ($p>0.05$), although untrained OVX animals tended to show higher values. Overall, resistance training appeared to promote a more favorable anti-inflammatory profile, whereas aerobic training was associated with a relative increase in IL-6/IL-10 ratio under hypoestrogenic conditions.

4. DISCUSSION

This study demonstrated that physical training mitigates osteopenia-induced deterioration of alveolar bone, a site not directly exposed to mechanical loading. Both aerobic and resistance exercise significantly reduced OTM and improved maxillary trabecular bone quality, indicating that the effects of exercise extend beyond load-bearing regions to craniofacial sites of clinical relevance.

The effects of physical exercise on long bones directly involved in mechanical loading are well established, particularly under osteopenic and osteoporotic conditions [38]. Our group previously demonstrated that both aerobic and resistance training increase osteoblastic activity and alveolar BMD, while reducing the response to mechanical loading (OTM) in the alveolar bone of healthy male mice [27]. The present study extends these findings to ovariectomized female mice, providing novel evidence in a clinically relevant model of estrogen deficiency, and strengthening the translational value of exercise as a systemic modulator of bone remodeling.

Our results showed that both exercise modalities increased maxillary BMD in OVX and SHAM animals. Although evidence remains limited regarding the systemic effects of exercise

on skeletal regions not directly exposed to mechanical loading, these findings are consistent with previous observations in alveolar bone of healthy male mice [27] and in nasal bone thickness in OVX rat models [39]. These results support the concept that physical activity contributes to the preservation and recovery of bone quality under osteopenic conditions. This highlights its potential as a complementary non-pharmacological strategy in the management of osteometabolic disorders and in modulating bone responses relevant to dental procedures

Among the exercise modalities evaluated, resistance training (ladder climbing) exerted more pronounced effects on bone microarchitecture and anabolic parameters, increasing BMD, BV, and BV/TV, as well as enhancing osteoblastic activity and matrix organization compared with untrained and aerobic-trained animals. These findings indicate that resistance exercise is particularly effective in promoting alveolar bone formation, even under conditions of hormonal deficiency. In contrast, aerobic training reduced Tb.Sp in OVX animals, suggesting a distinct effect on microstructural organization. The superior osteogenic response observed with resistance training is consistent with evidence that higher mechanical loading induces bone formation through osteocyte-mediated mechanotransduction and activation of signaling pathways such as Wnt/β-catenin [40]. Although the maxilla is not directly load-bearing during physical training, these findings support the contribution systemic adaptations to bone remodeling at distant sites. Mechanisms such as the release of myokines [41], growth factors [42], and improved tissue perfusion [8] likely mediate these effects [43].

In the present study, OTM was greater in untrained animals than in trained groups. Bone remodeling during OTM depends on the dynamic balance between resorption and formation. Consistent with previous reports, OTM is accelerated under estrogen-deficient conditions [44]. Estrogen plays a key role in maintaining skeletal microarchitecture by regulating cell differentiation, apoptosis, and inflammatory cytokine production [45]. It also modulates the RANKL/OPG axis, promoting increased OPG and reduced RANKL expression, thereby limiting osteoclastogenesis [3, 6] Estrogen deficiency following OVX disrupts this balance, increasing osteoclastic activity and enhancing the bone response to orthodontic forces, ultimately accelerating OTM [7, 46]. Accordingly, OVX animals exhibited a greater biological response than SHAM animals. In contrast, exercise attenuated OTM in OVX animals, suggesting a modulatory effect on bone remodeling. Clinically, these findings are relevant to postmenopausal conditions, in which bone turnover dynamics are altered and the capacity to respond to orthodontic forces may be compromised. Under such conditions, slower OTM may be advisable to allow adequate bone adaptation and recovery [13].

Although aerobic training did not significantly increase BMD compared with resistance training, it exerted a more pronounced effect in reducing OTM. This apparent dissociation suggests that factors beyond mineral density, such as remodeling dynamics, vascular adaptation, and microarchitectural improvements, may have contributed to this outcome. In particular, the reduction in Tb.Sp supports a beneficial effect on alveolar bone quality, potentially decreasing susceptibility to orthodontic displacement. Bone remodeling during OTM is driven by a transient inflammatory response to mechanical stimuli involving both bone and immune cells [47]. Adequate vascular adaptation within the periodontal ligament and alveolar bone is essential to support the delivery of oxygen, nutrients, hormones, and precursor cells, as well as to regulate osteoclast and osteoblast activity during OTM [48–50]. These processes may be impaired under estrogen deficiency conditions [48]. Physical training may exert beneficial effects by enhancing bone perfusion and modulating inflammatory mediators [8]. In particular, aerobic exercise is known to induce systemic anti-inflammatory effects, including the release of myokines such as IL-6, which in this context may exert regulatory actions, while also contributing to the reduction of chronic low-grade inflammation [51]. Collectively, these adaptations may reduce OTM [27].

Estrogen deficiency favors activation of the RANKL/RANK signaling pathway, leading to increased osteoclastic activity and enhanced bone resorption [3]. In the present study, physical training increased OPG expression, whereas OTM induced a further reduction in OPG levels, particularly in the OVX animals. These findings suggest a shift toward a more resorptive remodeling profile during mechanical stimulation under estrogen-deficient conditions. OPG acts as a decoy receptor for RANKL, preventing its interaction with RANK and thereby inhibiting osteoclastogenesis; thus, the reciprocal regulation of RANKL and OPG is essential for maintaining the balance between bone resorption and formation [52]. The reduction in OPG expression observed during OTM is consistent with the biological basis, which relies on localized bone resorption on the compression side of the periodontal ligament [53]. Under physiological conditions, alveolar bone remodeling during OTM is tightly regulated by the balance between osteoclastic and osteoblastic activity [54]. However, estrogen deficiency disrupts this balance, favoring a more resorptive state through dysregulation of the RANK/RANKL/OPG axis [5]. The exercise-induced increase in OPG expression suggests that physical training may partially restore osteoimmune balance and exert a protective modulatory effect on bone remodeling, even in the presence of estrogen deficiency [8, 55].

RUNX2, a key transcription factor regulating osteoblastic differentiation, was significantly upregulated in the untrained SHAM group subjected to OTM. RUNX2 plays a

central role in osteogenesis by promoting the commitment of mesenchymal stem cells (MSCs) to the osteoblastic lineage, stimulating osteoblast proliferation and differentiation, and indirectly contributing to the suppression of osteoclast-mediated bone resorption [56]. Although physical exercise has been shown to favor the shift from adipogenic to osteogenic pathways [43] training in the present study did not increase RUNX2 expression in the maxilla of trained animals, despite improvements in bone quality and formation-related parameters. This apparent discrepancy may be explained by the temporal dynamics of osteoblast differentiation. RUNX2 is predominantly expressed during the early stages of osteogenic commitment and typically declines as osteoblast maturation and mineralization progress [57]. Therefore, exercise-induced improvements in bone structure may reflect enhanced maturation and functional activity of osteoblasts. In contrast, the higher RUNX2 expression observed in untrained SHAM animals may indicate active local osteogenic turnover in response to OTM under preserved hormonal conditions. It is also plausible that exercise-induced adaptations may have occurred earlier in the remodeling cycle or were mediated by mechanotransduction-related pathways that do not require persistent RUNX2 overexpression [57, 58]. Additionally, these findings suggest that intact estrogen signaling may contribute to the maintenance of RUNX2 expression [59], while elevated expression observed on the OTM side likely reflects a localized response to mechanical loading [44, 60].

With respect to mechanical loading, histological analyses showed a marked increase in osteoclast number in untrained OVX animals and, to a lesser extent, in SHAM animals. The extend of bone resorption, particularly under estrogen deficiency, depends on both osteoclast numbers and activity, key determinants of alveolar bone remodeling and OTM [45, 61]. The further increase in osteoclast numbers following OTM reflects the expected physiological response of alveolar bone to orthodontic forces [29]. Interestingly, both aerobic and resistance exercise significantly reduced osteoclast numbers in OVX and SHAM groups. These effects were accompanied by increased OPG expression, decreased RANKL levels, and a reduced RANKL/OPG ratio in trained animals [27, 55], indicating suppression of osteoclastogenesis.

The protective effect of exercise on bone are well documented [62, 63] and extend beyond direct mechanical load. One potential mechanism involves the transmission of low-magnitude mechanical stimuli, such as exercise-induced vibrations, which can promote osteocyte activation and enhance mechanosensitive signaling pathways [64]. These stimuli may support bone cell function and contribute to the propagation of anabolic signals to skeletal regions not directly exposed to load, including the alveolar bone [39, 65]. In parallel, the analysis of cytokine ratios indicates that OVX shifted the systemic inflammatory profile toward

a more pro-inflammatory state, as evidenced by increased IL-1β/IL-10 and IL-6/IL-10 ratios. This pattern is consistent with the pathophysiology of estrogen deficiency-induced bone loss, in which immune activation favors osteoclastogenesis and bone resorption [3]. Supporting this interpretation, clinical studies have reported elevated circulating levels of IL-6 and TNF-α in postmenopausal osteoporosis, reinforcing the biological relevance of this inflammatory imbalance under hypoestrogenic conditions [66–68].

The increased IL-1β/IL-10 ratio in OVX animals indicates a relative impairment of systemic anti-inflammatory regulation. This interpretation is biologically plausible, as IL-10 inhibits osteoclastogenesis, partly through suppression of NFATc1, and functions as a counter-regulatory mechanism during periods of intensified bone remodeling. Consistently, this findings aligns with other results of the present study, including the increased number of osteoclasts and the imbalance in the RANKL/OPG axis observed in OVX animals [69].

The IL-6/IL-10 ratio was the most responsive parameter to the experimental conditions. Although IL-6 is traditionally classified as a pro-inflammatory cytokine, its transient elevation following aerobic exercise is expected and can be beneficial when driven by muscle contraction. In this context, IL-6 acts as a myokine, contributing to metabolic adaptations, and promoting anti-inflammatory pathways by stimulating IL-10 and IL-1ra while inhibiting TNF-α [26]. Importantly, the magnitude of this response depends on exercise duration and frequency. The higher IL-6/IL-10 values observed in the aerobic group may therefore reflect the cumulative effect of more frequent training sessions (five times per week), leading to repeated transient IL-6 elevations compared to resistance training performed three times per week, without compromising skeletal benefits [70–72].

In contrast, resistance training was associated with a more balanced inflammatory profile, characterized by lower IL-6/IL-10 values, particularly in OVX animals. This suggests that this modality may better balance inflammatory stimulation and chronic anti-inflammatory adaptation, possibly due to its lower frequency, and distinct loading pattern. Notably, both exercise protocols improved alveolar bone parameters, indicating that systemic cytokine profiles do not directly mirror local bone responses. This distinction is relevant given the role of IL-6 in bone remodeling during OTM. Thus, the elevated IL-6/IL-10 ratio in the aerobic group may reflect the combined influence of estrogen deficiency, repeated exercise stimuli, and increased local remodeling demand. Finally, the TNF-α/IL-10 ratio showed no significant differences, suggesting lower sensitivity under the conditions studied [73, 74]. Nonetheless, a tendency toward higher values in untrained OVX animals and partial normalization following exercise was observed.

Systemically, this modulation is likely mediated, at least in part, by exercise-induced myokines, particularly irisin. Irisin promotes osteoblastic activity, upregulates osteogenic markers such as RUNX2 and OCN, and inhibits osteoclastogenesis through modulation of the RANKL/OPG axis [19]. It also exerts anti-inflammatory effects by reducing pro-osteoclastogenic cytokines, including TNF-α and IL-1β, especially under estrogen-deficient conditions. Additional factors, such as IGF-1, metabolic active IL-6 and reduced myostatin levels, further supports muscle–bone crosstalk, by enhancing bone formation and preserving microarchitecture [75]. These responses are accompanied by endocrine adaptations, including modulation of the GH/IGF-1 axis and attenuation of chronic low-grade inflammation, influencing the balance between bone formation and resorption [18].

Aerobic and resistance exercise differ substantially in the cellular mechanisms they activate and in the physiological adaptations they induce [76]. Nevertheless, both modalities are consistently associated with skeletal benefits, including reduced bone fragility and fracture risk [77]. In experimental models, exercised animals typically exhibit better preservation of BMD and trabecular microarchitecture than untrained animals, even at sites not directly exposed to mechanical loading [39, 63]. The present findings suggest that this concept may extend to alveolar bone under estrogen deficiency conditions, offering a translational perspective that reinforces the role of physical activity in the prevention and management of periodontitis and alveolar bone loss.

5. CONCLUSION

Aerobic and resistance training improved bone quality at sites distant from the primary mechanical loading stimulus and attenuated the deleterious effects of estrogen deficiency in OVX female mice. These effects were reflected by increased osteoblastic activity, higher BMD, greater BV/TV, and reduced OTM compared with untrained animals.

CRediT authorship contribution statement

Juliana Cristina dos Reis Canaan: Writing – original draft, Investigation, Methodology, Data curation, Formal analysis. Pedro Gustavo Machado: Investigation, Methodology, Data curation. Luciana Botelho Ribeiro: Investigation, Methodology. Ivam Moreira de Oliveira Júnior: Formal analysis, Visualization, Writing – review & editing. Rafael Scaf de Molon: Writing – review & editing, Supervision. Eric Francelino Andrade: Formal analysis, Writing – review & editing. Soraia Macari: Conceptualization, Supervision, Methodology, Writing – review & editing. Luciano José Pereira: Conceptualization, Supervision, Funding acquisition,

Project administration, Writing – review & editing. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Funding

This project was supported by the Minas Gerais Research Support Foundation – FAPEMIG (APQ-01552-21) and the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Processes PDJ-150711/2022-0 and 309610/2023-0).

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

REFERENCES

1. Nicholson WK, Silverstein M, Wong JB, *et al* (2025) Screening for Osteoporosis to Prevent Fractures. JAMA 333:498. https://doi.org/10.1001/jama.2024.27154
2. Mada SB, Reddi S, Kumar N, *et al* (2017) Antioxidative peptide from milk exhibits antiosteopenic effects through inhibition of oxidative damage and bone-resorbing cytokines in ovariectomized rats. Nutrition 43–44:21–31. https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.06.010
3. Khalid AB, Krum SA (2016) Estrogen receptors alpha and beta in bone. Bone 87:130–135. https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.03.016
4. Ivanova S, Vasileva L, Ivanova S, *et al* (2015) Osteoporosis: Therapeutic Options. Folia Med (Plovdiv) 57:181–190. https://doi.org/10.1515/folmed-2015-0037
5. Cheng CH, Chen LR, Chen KH (2022) Osteoporosis Due to Hormone Imbalance: An Overview of the Effects of Estrogen Deficiency and Glucocorticoid Overuse on Bone Turnover. Int J Mol Sci 2022, Vol 23, 23:. https://doi.org/10.3390/ijms23031376
6. Martin A, Xiong J, Koromila T, *et al* (2015) Estrogens antagonize RUNX2-mediated osteoblast-driven osteoclastogenesis through regulating RANKL membrane association. Bone 75:96–104. https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.02.007
7. Epsley S, Tadros S, Farid A, *et al* (2021) The Effect of Inflammation on Bone. Front Physiol 11:. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.511799
8. Lombardi G, Ziemann E, Banfi G (2019) Physical activity and bone health: What is the role of immune system? A narrative review of the third way. Front Endocrinol (Lausanne) 10:1–60. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00060
9. Geurs NC, Lewis CE, Jeffcoat MK (2003) Osteoporosis and periodontal disease progression. Periodontol 2000 32:105–110. https://doi.org/10.1046/j.0906-6713.2003.03208.x
10. Thompson DM, Lee HM, Stoner JA, *et al* (2019) Loss of alveolar bone density in post-menopausal, osteopenic women is associated with circulating levels of gelatinases. J Periodontal Res 54:532. https://doi.org/10.1111/JRE.12656
11. Ayed MS, Alsharif AF, Divakar DD, *et al* (2019) Evaluating the possible association between systemic osteoporosis and periodontal disease progression in postmenopausal women. Disease-a-Month 65:193–215. https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2018.11.001

12. Zhang H, Zhang D (2017) Effects of Periodontal Ligament Cells on Alveolar Bone Metabolism under the Action of Force and Inflammatory Factors and Its Molecular Mechanisms. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao 39:432–437. https://doi.org/10.3881/J.ISSN.1000-503X.2017.03.023
13. Chen Y, Cao Z, Zhang L, *et al* (2011) Low level laser can be a novel adjuvant method for orthodontic tooth movement on postmenopausal women. Med Hypotheses 76:479–481. https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.11.025
14. Gregson CL, Armstrong DJ, Avgerinou C, *et al* (2025) The 2024 UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. Arch Osteoporos 20:119. https://doi.org/10.1007/S11657-025-01588-3
15. Asiry MA (2018) Biological aspects of orthodontic tooth movement: A review of literature. Saudi J Biol Sci 25:1027–1032. https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2018.03.008
16. Black DM, Rosen CJ (2016) Postmenopausal Osteoporosis. N Engl J Med 374:254–262. https://doi.org/10.1056/NEJMcp1513724
17. Reid IR, Billington EO (2022) Drug therapy for osteoporosis in older adults. Lancet 399:1080–1092. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02646-5
18. Tagliaferri C, Wittrant Y, Davicco M-J, *et al* (2015) Muscle and bone, two interconnected tissues. Ageing Res Rev 21:55–70. https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.03.002
19. Lombardi G, Sanchis-Gomar F, Perego S, *et al* (2016) Implications of exercise-induced adipo-myokines in bone metabolism. Endocrine 54:284–305. https://doi.org/10.1007/s12020-015-0834-0
20. Bolamperti S, Villa I, Rubinacci A (2022) Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. Bone Res 10:. https://doi.org/10.1038/s41413-022-00219-8
21. Yi Q, Liu H, Feng J, *et al* (2019) Splicing factor-modulated generation of mechano growth factor regulates physiological processes in osteoblasts under mechanical stimuli. Cell Adh Migr 13:322. https://doi.org/10.1080/19336918.2019.1686103
22. Tong Y, Feng W, Wu Y, *et al* (2015) Mechano-growth factor accelerates the proliferation and osteogenic differentiation of rabbit mesenchymal stem cells through the PI3K/AKT pathway. BMC Biochem 16:. https://doi.org/10.1186/S12858-015-0031-Z
23. Terashima A, Takayanagi H (2018) Overview of Osteoimmunology. Calcif Tissue Int 2018 1025 102:503–511. https://doi.org/10.1007/S00223-018-0417-1
24. Liu M, Liu Y, Yu J, *et al* (2025) Molecular mechanisms and therapeutic implications of the sympathetic nervous system in bone-related disorders: a brain-bone axis perspective. Bone Res 13:98. https://doi.org/10.1038/s41413-025-00494-1
25. Chen J, Zhou R, Feng Y, Cheng L (2022) Molecular mechanisms of exercise contributing to tissue regeneration. Signal Transduct Target Ther 2022 71 7:383-. https://doi.org/10.1038/s41392-022-01233-2
26. Kistner TM, Pedersen BK, Lieberman DE (2022) Interleukin 6 as an energy allocator in muscle tissue. Nat Metab 2022 42 4:170–179. https://doi.org/10.1038/s42255-022-00538-4
27. Pereira LJ, Macari S, Coimbra CC, *et al* (2020) Aerobic and resistance training improve alveolar bone quality and interferes with bone-remodeling during orthodontic tooth movement in mice. Bone 138:115496. https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115496
28. Pazzini CA, Pereira LJ, da Silva TA, *et al* (2017) Probiotic consumption decreases the number of osteoclasts during orthodontic movement in mice. Arch Oral Biol 79:30–34. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.02.017
29. Taddei SR de A, Moura AP, Andrade I, *et al* (2012) Experimental model of tooth movement in mice: A standardized protocol for studying bone remodeling under

compression and tensile strains. J Biomech 45:2729–2735. https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2012.09.006

30. de Albuquerque Taddei SR, Queiroz-Junior CM, Moura AP, *et al* (2013) The effect of CCL3 and CCR1 in bone remodeling induced by mechanical loading during orthodontic tooth movement in mice. Bone 52:259–267. https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.09.036
31. Macari S, Duffles LF, Queiroz-Junior CM, *et al* (2015) Oestrogen regulates bone resorption and cytokine production in the maxillae of female mice. Arch Oral Biol 60:333–341. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.11.010
32. Montalvany-Antonucci CC, Duffles LF, de Arruda JAA, *et al* (2019) Short-chain fatty acids and FFAR2 as suppressors of bone resorption. Bone 125:112–121. https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.05.016
33. Toyama RV, Colares JP, Refaxo N de A, *et al* (2026) SOCS2 deficiency drives sex-specific remodeling of mineralized tissues. Bone 207:117839. https://doi.org/10.1016/j.bone.2026.117839
34. Lima ILA, Macari S, Madeira MFM, *et al* (2015) Osteoprotective Effects of IL-33/ST2 Link to Osteoclast Apoptosis. Am J Pathol 185:3338–3348. https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.08.013
35. Rutkovskiy A, Stensløkken K-O, Vaage IJ (2016) Osteoblast Differentiation at a Glance. Med Sci Monit Basic Res 22:95–106. https://doi.org/10.12659/MSMBR.901142
36. Oliveira MC, Arntz OJ, Blaney Davidson EN, *et al* (2016) Milk extracellular vesicles accelerate osteoblastogenesis but impair bone matrix formation. J Nutr Biochem 30:74–84. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.11.017
37. Khalil A, Omran H, Alsheikh F (2018) Balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in livers of high fat diet rats exposed to fractionated gamma irradiation. BMC Res Notes 2018 111 11:741-. https://doi.org/10.1186/S13104-018-3851-2
38. Varahra A, Rodrigues IB, MacDermid JC, *et al* (2018) Exercise to improve functional outcomes in persons with osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. Osteoporos Int 2018 292 29:265–286. https://doi.org/10.1007/S00198-017-4339-Y
39. Ocarino NM, Marubayashi U, Cardoso TG, *et al* (2007) Physical activity in osteopenia treatment improved the mass of bones directly and indirectly submitted to mechanical impact. J Musculoskelet Neuronal Interact 7:84–93
40. Galea GL, Meakin LB, Sugiyama T, *et al* (2013) Estrogen Receptor α Mediates Proliferation of Osteoblastic Cells Stimulated by Estrogen and Mechanical Strain, but Their Acute Down-regulation of the Wnt Antagonist Sost Is Mediated by Estrogen Receptor β. J Biol Chem 288:9035. https://doi.org/10.1074/jbc.M112.405456
41. Kang JS, Kim JH, Kim MJ, *et al* (2025) Exercise-induced CLCF1 attenuates age-related muscle and bone decline in mice. Nat Commun 16:. https://doi.org/10.1038/s41467-025-59959-w
42. Kavadia-Tsatala S, Kaklamanos EGE, Tsalikis L (2002) Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: clinical implications and applications. 17:191–205
43. Keller H, Kneissel M (2005) SOST is a target gene for PTH in bone. Bone 37:148–158. https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.03.018
44. Yamashiro T, Takano-Yamamoto T (2001) Influences of ovariectomy on experimental tooth movement in the rat. J Dent Res 80:1858–1861. https://doi.org/10.1177/00220345010800091701
45. MacAri S, Ajay Sharma L, Wyatt A, *et al* (2016) Osteoprotective Effects of Estrogen in the Maxillary Bone Depend on ERα. J Dent Res 95:689–696. https://doi.org/10.1177/0022034516633154
46. Amaro ERS, Ortiz FR, Dorneles LS, *et al* (2020) Estrogen protects dental roots from

orthodontic-induced inflammatory resorption. Arch Oral Biol 117:104820. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104820
47. Jeon HH, Huang X, Rojas Cortez L, *et al* (2024) Inflammation and mechanical force-induced bone remodeling. Periodontol 2000 00:1–26. https://doi.org/10.1111/prd.12619
48. Krishnan V, Davidovitch Z (2006) Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. Am J Orthod Dentofac Orthop 129:469.e1-469.e32. https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2005.10.007
49. Wise GE, King GJ (2008) Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. J Dent Res 87:414–434. https://doi.org/10.1177/154405910808700509
50. Jang H-J, Yoon J-K (2024) The Role of Vasculature and Angiogenic Strategies in Bone Regeneration. Biomimetics 9:75. https://doi.org/10.3390/biomimetics9020075
51. Ferreira R de O, Pereira MS, Souza-Monteiro D, *et al* (2024) Physical training attenuates systemic cytokine response and tissue damage triggered by apical periodontitis. Sci Reports 2024 141 14:8030-. https://doi.org/10.1038/s41598-024-58384-1
52. Huang H, Williams RC, Kyrkanides S (2014) Accelerated orthodontic tooth movement: Molecular mechanisms. Am J Orthod Dentofac Orthop 146:620–632. https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2014.07.007
53. Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM (2023) Mechanobiology of orthodontic tooth movement: An update. J World Fed Orthod 12:156–160. https://doi.org/10.1016/j.ejwf.2023.05.001
54. Zeng M, Kou X, Yang R, *et al* (2015) Orthodontic Force Induces Systemic Inflammatory Monocyte Responses. J Dent Res 94:1295–1302. https://doi.org/10.1177/0022034515592868
55. Stringhetta-Garcia CT, Singulani MP, Santos LF, *et al* (2016) The effects of strength training and raloxifene on bone health in aging ovariectomized rats. Bone 85:45–54. https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.11.023
56. Robinson JA, Chatterjee-Kishore M, Yaworsky PJ, *et al* (2006) Wnt/β-Catenin Signaling Is a Normal Physiological Response to Mechanical Loading in Bone. J Biol Chem 281:31720–31728. https://doi.org/10.1074/jbc.M602308200
57. Komori T (2010) Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. Adv Exp Med Biol 658:43–49. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1050-9_5
58. Khosla S, Monroe DG (2018) Regulation of bone metabolism by sex steroids. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 8
59. Xu T, Yan M, Wang Y, et al (2013) Estrogen deficiency reduces the dentinogenic capacity of rat lower incisors. J Mol Histol 2013 451 45:11–19. https://doi.org/10.1007/s10735-013-9533-4
60. Tsolakis AI, Khaldi L, Rontogianni A, *et al* (2022) Alveolar bone response distal to applied orthodontic forces in ovariectomized rats. J Musculoskelet Neuronal Interact 22:235
61. Liu W, Xu C, Zhao H, *et al* (2015) Osteoprotegerin induces apoptosis of osteoclasts and osteoclast precursor cells via the fas/fas ligand pathway. PLoS One 10:. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142519
62. Stewart S, Darwood A, Masouros S, *et al* (2020) Mechanotransduction in osteogenesis. Bone Jt Res 9:1–14. https://doi.org/10.1302/2046-3758.91.BJR-2019-0043.R2
63. Moreira LDF, de Oliveira ML, Lirani-Galvão AP, *et al* (2014) Exercício físico e osteoporose: Efeitos de diferentes tipos de exercícios sobre o osso e a função física de mulheres pós-menopausadas. Arq Bras Endocrinol Metabol 58:514–522. https://doi.org/10.1590/0004-2730000003374
64. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF (2013) The Osteocyte: An Endocrine Cell … and More. Endocr Rev 34:658. https://doi.org/10.1210/ER.2012-1026

65. Alikhani M, Khoo E, Alyami B, *et al* (2012) Osteogenic Effect of High-frequency Acceleration on Alveolar Bone. J Dent Res 91:413–419. https://doi.org/10.1177/0022034512438590
66. Weitzmann MN, Pacifici R (2006) Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. J Clin Invest 116:1186–1194. https://doi.org/10.1172/JCI28550
67. Cenci S, Weitzmann MN, Roggia C, *et al* (2000) Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF-alpha. J Clin Invest 106:1229–1237. https://doi.org/10.1172/JCI11066
68. Huang X, Ni B, Li Q, *et al* (2024) Association between Postmenopausal Osteoporosis and IL-6、TNF-α: A Systematic Review and A Meta-analysis. Comb Chem High Throughput Screen 27:2260–2266. https://doi.org/10.2174/0113862073262645231121025911
69. Evans KE, Fox SW (2007) Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus. BMC Cell Biol 2007 81 8:4-. https://doi.org/10.1186/1471-2121-8-4
70. Petersen AMW, Pedersen BK (2005) The anti-inflammatory effect of exercise. J Appl Physiol 98:1154–1162. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00164.2004
71. Fischer CP, Philip (2016) Interleukin-6 in acute exercise and training : what is the biological relevance. Exerc Immunol Rev 1991:6–33
72. Nash D, Hughes MG, Butcher L, et al (2022) IL-6 signaling in acute exercise and chronic training: Potential consequences for health and athletic performance. Scand J Med Sci Sports 33:4. https://doi.org/10.1111/sms.14241
73. Toyama N, Ono T, Ono T, Nakashima T (2023) The interleukin-6 signal regulates orthodontic tooth movement and pain. Biochem Biophys Res Commun 684:149068. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.09.096
74. Zhao Z, Du Y, Yan K, *et al* (2024) Exercise and osteoimmunology in bone remodeling. FASEB J 38:. https://doi.org/10.1096/fj.202301508RRR
75. Kraemer WJ, Ratamess NA (2005) Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. Sports Med 35:339–361. https://doi.org/10.2165/00007256-200535040-00004
76. Smith JAB, Murach KA, Dyar KA, Zierath JR (2023) Exercise metabolism and adaptation in skeletal muscle. Nat Rev Mol Cell Biol 24:607–632. https://doi.org/10.1038/s41580-023-00606-x
77. Kelley GA, Kelley KS, Kohrt WM (2012) Effects of ground and joint reaction force exercise on lumbar spine and femoral neck bone mineral density in postmenopausal women: A meta-analysis of randomized controlled trials. BMC Musculoskelet Disord 13:. https://doi.org/10.1186/1471-2474-13-177

TABLES, CHARTS AND FIGURES

Table 1. Primer sequences and reaction properties.

Target Genes	*Sense* and *anti-sense* sequences	Base Pairs
RANKL	CCTGAGGCCCAGCCATTT	108
	CTTGGCCCAGCCTCGAT	
OPG	TACCTGGAGATCGAATTCTGCTT	110
	CCATCTGGACATTTTTTGCAAA	
RUNX2	AACCACAGAACCACAAGTGCG	119
	AAATGACTCGGTTGGTCTCGG	
GAPDH	ACGGCCGCATCTTCTTGTGCA	75
	CGCCCAAATCCGTTCACACCG	

Supplemental Table 1. Body mass, physical performance, and uterine weight of OVX and SHAM female C57BL/6 mice subjected to different training protocols.

		Body mass (g)			
Group	**Training**	**Initial**	**4 weeks**	**8 weeks**	**Weight Δ (g)**
OVX	Untrained	19.54 ± 1.86	21.63 ± 2.43	20.31 ± 1.44 ^{A}	+1.77
	Climbing	20.41 ± 0.97	21.20 ± 1.68	20.56 ± 1.65 ^{AB}	+0.15
	Treadmill	21.52 ± 1.24	21.77 ± 1.32	20.12 ± 0.91 ^{B}	-1.40
SHAM	Untrained	20.43 ± 1.18	21.36 ± 1.60	21.00 ± 1.07 ^{A}	+0.57
	Climbing	20.52 ± 0.88	21.10 ± 1.11	19.98 ± 0.87 ^{B}	-0.54
	Treadmill	19.26 ± 0.83	19.36 ± 1.19	18.35 ± 1.29 ^{B}	-0.91
		Workload (j)			
OVX	Untrained	6.99 ± 3.78	5.04 ± 1.50	4.34 ± 1.17 ^{B}	-2.66
	Climbing	11.19 ± 5.44	13.48 ± 10.55	18.56 ± 13.00 ^{A}	+7.37
	Treadmill	9.11 ± 8.16	20.16 ± 15.83	22.98 ± 17.42 ^{A}	+13.87
SHAM	Untrained	8.11 ± 2.31	6.44 ± 1.70	5.98 ± 1.91 ^{B}	-2.13
	Climbing	8.26 ± 2.14	10.68 ± 6.34	14.16 ± 9.09 ^{A}	+5.90
	Treadmill	7.36 ± 3.47	14.41 ± 7.09	15.52 ± 5.72 ^{A}	+8.16
		Uterus weight (g)			
OVX	Untrained	0.0136 ± 0.0053 ^{B}			
	Climbing	0.0206 ± 0.0114 ^{B}			
	Treadmill	0.0254 ± 0.0183 ^{B}			
SHAM	Untrained	0.0869 ± 0.0251 ^{A}			
	Climbing	0.0918 ± 0.0082 ^{A}			
	Treadmill	0.0796 ± 0.0237 ^{A}			

Data are presented as mean ± standard deviation. Statistical differences between groups are indicated by different superscript letters ($p < 0.05$). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by the Student–Newman–Keuls (SNK) post hoc. OVX, ovariectomized animals; SHAM, sham-operated animals.

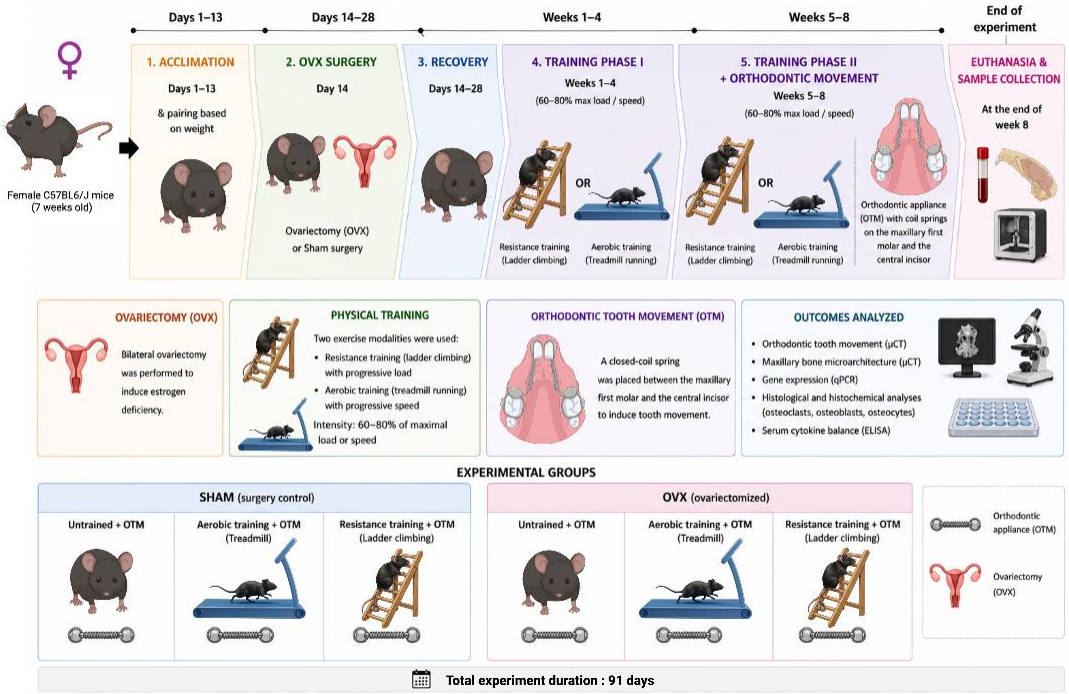


Figure 1. Experimental timeline illustrating acclimation, surgery, training phases, orthodontic tooth movement, euthanasia, and outcomes analyzed. Created in BioRender. de Avila, E. (2026) https://BioRender.com/z6r6x3g

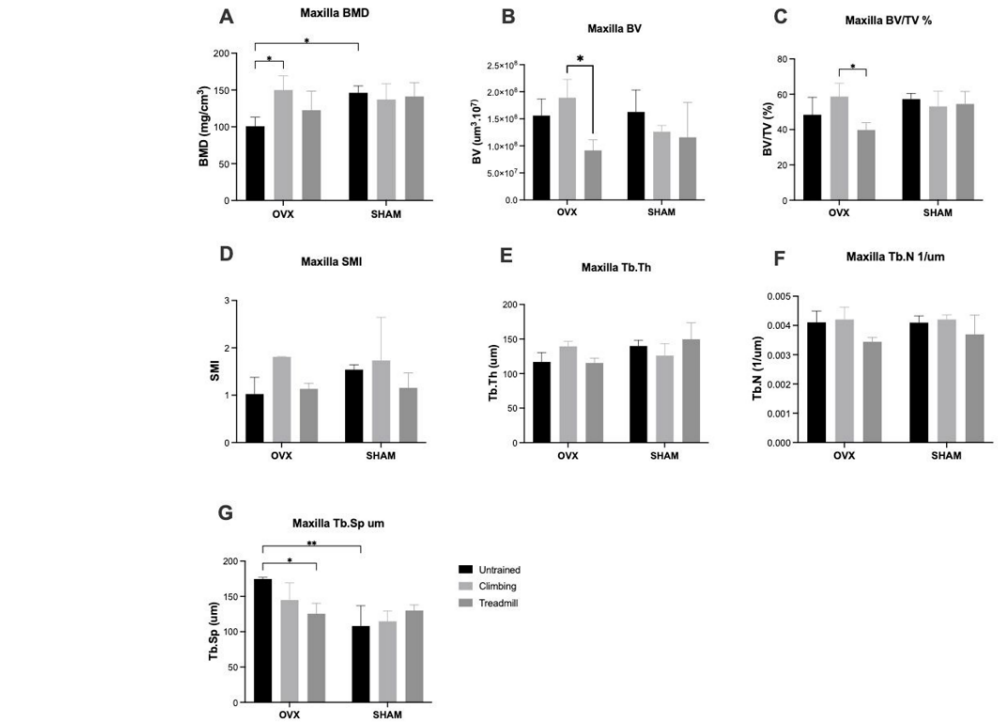


Figure 2. Mean (±SD) values of (A) bone mineral density (BMD), (B) bone volume (BV), (C) bone volume/total volume (BV/TV), (D) Structure Model Index (SMI), (E) trabecular thickness (Tb.Th), (F) trabecular number (Tb.N), and (G) trabecular separation (Tb.Sp) of the maxilla of untrained female C57BL/6 mice and those subjected to 8 weeks of resistance training using ladder climbing with load and aerobic training on a treadmill. *$p < 0.05$ - statistical difference. Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by the Student–Newman–Keuls (SNK) *post hoc*.

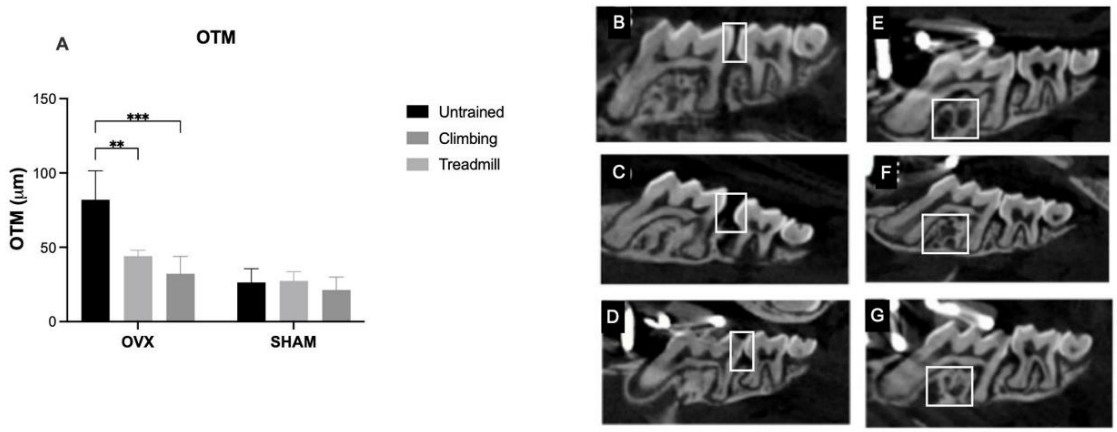


Figure 3. (A) Mean (± SD) values of orthodontic tooth movement (OTM) obtained by micro-CT in untrained female C57BL/6 mice and those subjected to 8 weeks of resistance training on a loaded ladder and aerobic treadmill training. Representative images of OTM (white rectangles) of the groups (B) OVX – resistance training; (C) OVX – untrained; (D) OVX – treadmill training. Representative images of maxila furcation area (white squares) for (E) SHAM – resistance training; (F) SHAM – untrained; (G) SHAM – treadmill training. Statistical differences (**$p < 0.01$, ***$p < 0.001$). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test.

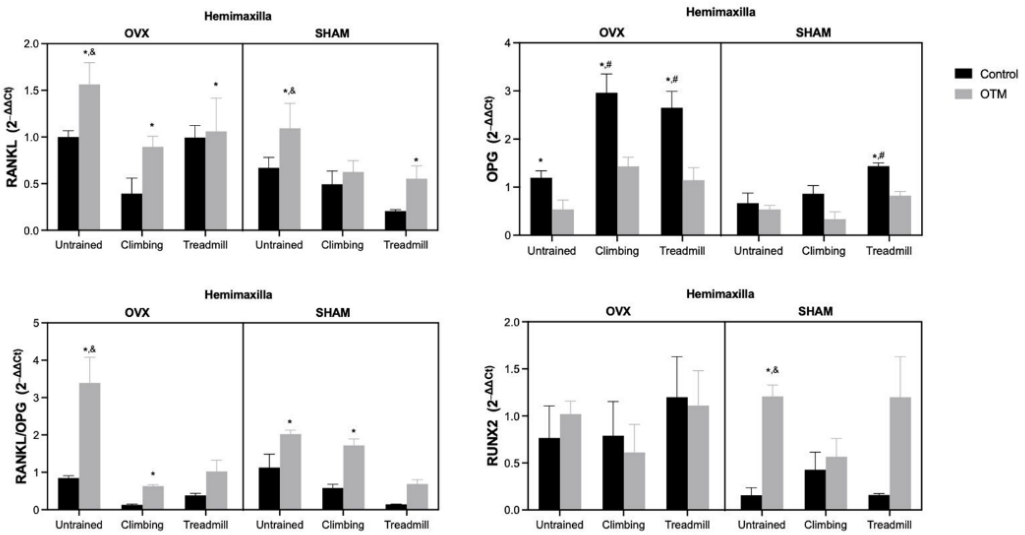


Figure 4. Mean (± SD) expression of bone-related genes (2^−ΔΔCt) RANKL (A), OPG (B), RANKL/OPG ratio (C), and RUNX2 (D) in hemimaxillae of OVX and SHAM female C57BL/6 mice subjected to different experimental conditions (untrained, ladder climbing, and treadmill) with orthodontic tooth movement (OTM). Statistical differences (* $p < 0.05$ vs respective Control; # $p < 0.05$ vs untrained group; & $p < 0.05$ vs training groups). Statistical analysis was performed using three-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test.

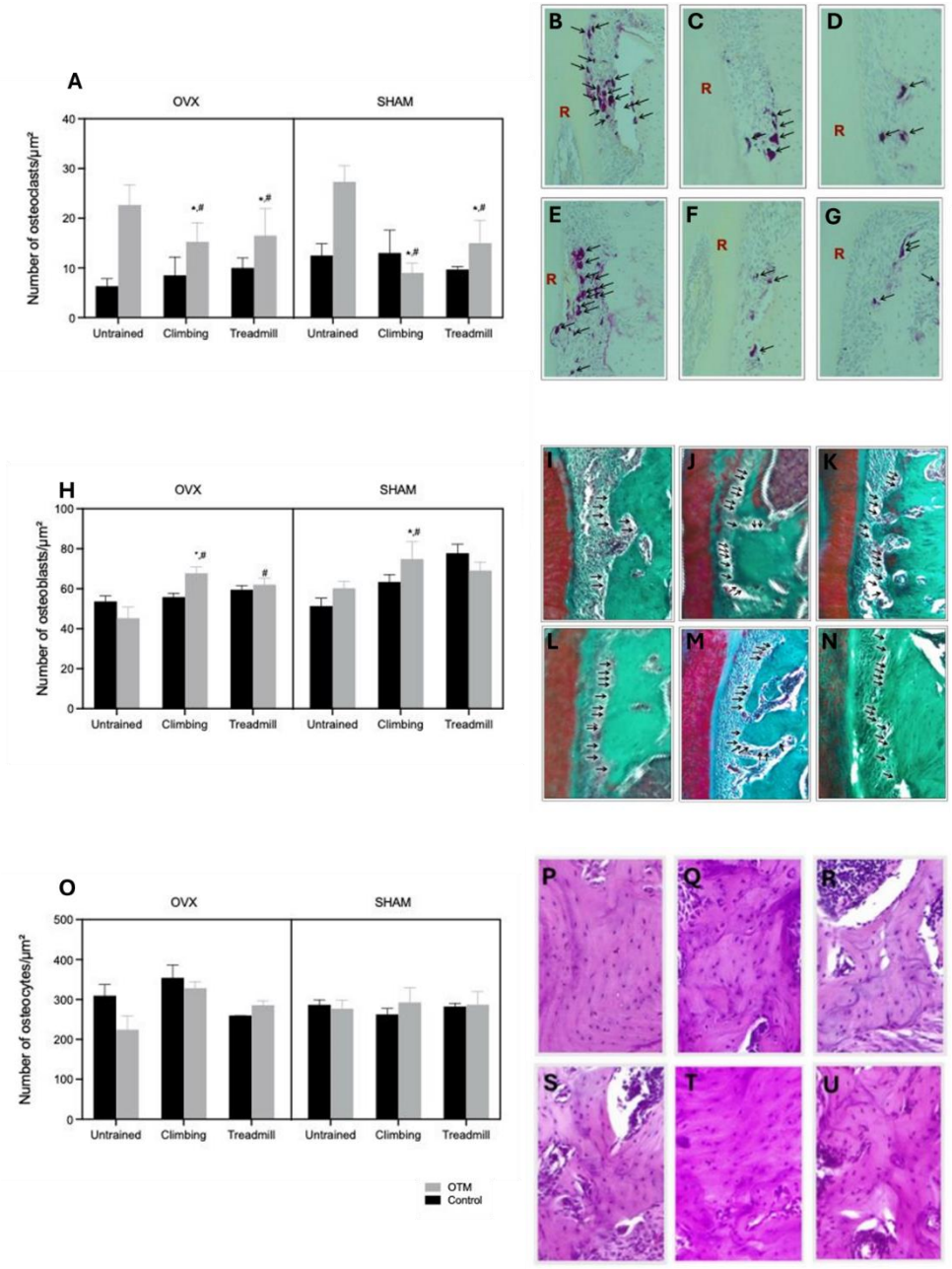


Figure 5. Quantitative analysis of bone cells (cells/ µm²) and representative histological images of the maxillary alveolar bone (both sides: with or without mechanical loading—OTM: orthodontic tooth movement) in female C57BL/6J mice subjected to 8 weeks of aerobic (treadmill running) or resistance (ladder climbing) training compared with untrained controls. (A) Osteoclast number, (H) osteoblast number, and (O) osteocyte number. (B–G), (I–N), and (P–U) Representative images of SHAM (untrained), resistance training, and aerobic training groups, and OVX (untrained), resistance training, and aerobic training groups, respectively. Arrows indicate osteoclasts (B–G) and osteoblasts (I–N). R: tooth root; AB: alveolar bone. Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Statistical differences (*P < 0.05 vs. respective control; #p < 0.05 vs. untrained group; & p < 0.05 vs). training groups. Statistical analysis was performed using three-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test.

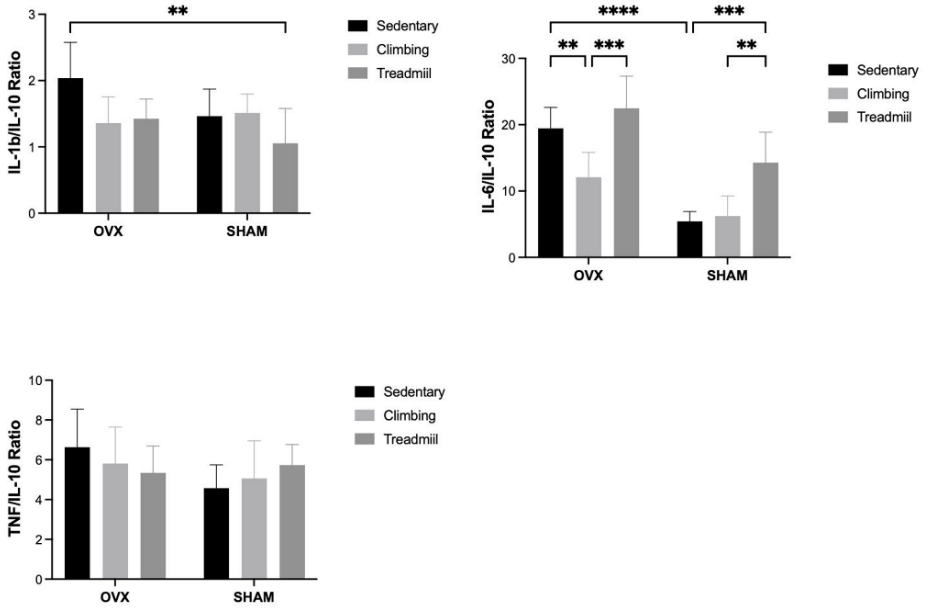


Figure 6. Serum interleukin ratios IL-1/IL-10 (A), IL-6/IL-10 (B), and TNF-α/IL-10 (C) in OVX and SHAM female C57BL/6J mice subjected to 8 weeks of aerobic training (treadmill running) or resistance training (ladder climbing) compared with non-trained controls. Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Statistical differences (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$, ****$p < 0.0001$). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by the Student–Newman–Keuls (SNK) post hoc.

TERCEIRA PARTE

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os achados desta tese demonstram que o treinamento físico, em condições de deficiência estrogênica, constitui um modulador importante da qualidade de regiões não submetidas à carga mecânica, o osso alveolar, especialmente quando considerado o contexto carga mecânica induzida pela movimentação dentária ortodôntica. Assim, este estudo permitiu investigar a interação entre adaptação sistêmica ao exercício e uma demanda local por remodelação óssea. Observou-se que a presença de carga mecânica local interage com o estado sistêmico induzido pelo treinamento físico e pela deficiência estrogênica, modulando parâmetros microestruturais, celulares e moleculares do osso alveolar. A análise por micro-CT, associada à quantificação de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, bem como à expressão de marcadores como RUNX2, RANKL e OPG, permitiu uma compreensão integrada da dinâmica de remodelação óssea sob diferentes condições experimentais. Em síntese, esta tese amplia a compreensão sobre a interação entre deficiência estrogênica, exercício físico e remodelação óssea do osso alveolar, evidenciando que o treinamento físico é capaz de modular, por vias estruturais e moleculares, a qualidade óssea em condições de senescência ovariana.

Do ponto de vista translacional, os resultados sugerem que o exercício físico pode representar uma estratégia não farmacológica adjuvante para a preservação da saúde óssea craniofacial, em humanos e animais, em condições de deficiência estrogênica. Além disso, os achados apresentam potencial relevância para a prática odontológica, ao indicar que o estado sistêmico do tecido ósseo, modulado pelo exercício, pode influenciar no manejo de alterações periodontais e perda óssea alveolar em condições de hipoestrogenismo.

REFERÊNCIAS

AINI SAHRIR, Noor; KIEW OOI, Foong. Physical Activity, Bone Remodelling and Bone Metabolism Markers. **Journal of Exercise, Sports & Orthopedics**, v. 5, n. 2, p. 1–4, 2018.

ALLEN, Jacob; SUN, Yi; WOODS, Jeffrey A. Exercise and the Regulation of Inflammatory Responses. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 135, p. 337–354, 2015.

ARMSTRONG, P. Jane; OH, Won-Seok. Pathophysiology of geriatric diseases in dogs and cats: a foundation for geriatric care. **Journal of Veterinary Science**, v. 26, n. Suppl 1, p. S60, 2025.

ASIRY, Moshabab A. Biological aspects of orthodontic tooth movement: A review of literature. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 6, p. 1027–1032, 1 set. 2018.

AYED, Mohammed Saeed *et al.* Evaluating the possible association between systemic osteoporosis and periodontal disease progression in postmenopausal women. **Disease-a-Month**, v. 65, n. 6, p. 193–215, 1 jun. 2019.

BACON, Janice L. The Menopausal Transition. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 44, n. 2, p. 285–296, jun. 2017.

BARON, Roland; KNEISSEL, Michaela. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. **Nature medicine**, v. 19, n. 2, p. 179–192, fev. 2013.

BEN-AWADH, Abdullah N. *et al.* Parathyroid hormone receptor signaling induces bone resorption in the adult skeleton by directly regulating the RANKL gene in osteocytes. **Endocrinology**, v. 155, n. 8, p. 2797–2809, 2014.

BERGMANN, P. *et al.* Loading and skeletal development and maintenance. **Journal of osteoporosis**, v. 2011, p. 1–15, 2010.

BOLAMPERTI, Simona; VILLA, Isabella; RUBINACCI, Alessandro. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. **Bone Research**, v. 10, n. 1, 2022.

BONEWALD, Lynda. Use it or lose it to age: A review of bone and muscle communication. **Bone**, v. 120, p. 212–218, mar. 2019.

BORDE, Ron; HORTOBÁGYI, Tibor; GRANACHER, Urs. Dose–Response Relationships of Resistance Training in Healthy Old Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1693–1720, 2015.

BORDUKALO-NIKŠIĆ, Tatjana; KUFNER, Vera; VUKIČEVIĆ, Slobodan. The Role Of BMPs in the Regulation of Osteoclasts Resorption and Bone Remodeling: From Experimental Models to Clinical Applications. **Frontiers in immunology**, v. 13, 26 abr. 2022.

BOSKEY, Adele L. Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects. **BoneKEy Reports**, v. 2, p. 447, 4 dez. 2013.

CAPPOLA, Anne R. *et al.* Hormones and Aging: An Endocrine Society Scientific Statement. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 108, n. 8, p. 1835–1874, 14 jul. 2023.

CENCI, Simone *et al.* Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF-alpha. **The Journal of clinical investigation**, v. 106, n. 10, p. 1229–1237, 2000.

CHANG, Xinyu; XU, Sheng; ZHANG, Hao. Regulation of bone health through physical exercise: Mechanisms and types. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, n. December, p. 1–13, 2022.

CHEN, Guiqian; DENG, Chuxia; LI, Yi Ping. TGF-β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. **International journal of biological sciences**, v. 8, n. 2, p. 272–288, 2012.

CHEN, Huayue; SENDA, Takao; KUBO, Kin-ya. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. **Medical molecular morphology**, v. 48, n. 2, p. 61–8, 1 jun. 2015.

CHEN, Yijia *et al.* Low level laser can be a novel adjuvant method for orthodontic tooth movement on postmenopausal women. **Medical Hypotheses**, v. 76, n. 4, p. 479–481, 1 abr. 2011.

CLEGG, Deborah *et al.* Sex Hormones and Cardiometabolic Health: Role of Estrogen and Estrogen Receptors. **Endocrinology**, v. 158, n. 5, p. 1095, 1 maio 2017.

CLINE, Martha G. *et al.* Body composition of lean outdoor intact cats vs lean indoor neutered cats using dual-energy x-ray absorptiometry. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 6, p. 459, 1 jun. 2018.

COSMAN, F. *et al.* Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. **Osteoporosis International 2014 25:10**, v. 25, n. 10, p. 2359–2381, 15 ago. 2014.

CROCKETT, Julie C. *et al.* Bone remodelling at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 124, n. 7, p. 991–998, 1 abr. 2011.

D'AMELIO, Patrizia *et al.* Interactions between the immune system and bone. **World Journal of Orthopedics**, v. 2, n. 3, p. 25, 2011.

DATTA, H. K. *et al.* The cell biology of bone metabolism. **Journal of Clinical Pathology**, v. 61, n. 5, p. 577–587, 2008.

DE ARAÚJO JÚNIOR, Raimundo Fernandes *et al.* Carvedilol decrease IL-1β and TNF-α, inhibits MMP-2, MMP-9, COX-2, and RANKL expression, and up-regulates OPG in a rat model of periodontitis. **PloS one**, v. 8, n. 7, 3 jul. 2013.

DERIGGI-PISANI, Graziéle F. *et al.* Role of resistance training in bone macro and micro damages in an estrogen absence animal model. **Life Sciences**, v. 317, 15 mar. 2023.
DIRCKX, Naomi *et al.* THE ROLE OF OSTEOBLASTS IN ENERGY HOMEOSTASIS. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 15, n. 11, p. 651, 1 nov. 2019.

EIRINI, Koidou *et al.* Bone Density Measurements and Biomarkers in Nutrition: DXA (Dual X-ray Absorptiometry), Osteopenia, and Osteoporosis. *In*: *[S.l.]*: Springer, Cham, 2022. p. 1067–1084.

EPSLEY, Scott *et al.* The Effect of Inflammation on Bone. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 5 jan. 2021.

FAN, Yao *et al.* Sex- and Age-Specific Prevalence of Osteopenia and Osteoporosis: Sampling Survey. **JMIR Public Health and Surveillance**, v. 10, p. e48947, 2024.

FUKADA, Eiichi; YASUDA, Iwao. On the Piezoelectric Effect of Bone. **Journal of the Physical Society of Japan**, v. 12, n. 10, p. 1158–1162, out. 1957.

GADOMSKI, Stephen *et al.* A cholinergic neuroskeletal interface promotes bone formation during postnatal growth and exercise. **Cell Stem Cell**, v. 29, n. 4, p. 528, 7 abr. 2022.

GALEA, Gabriel L. *et al.* Estrogen Receptor α Mediates Proliferation of Osteoblastic Cells Stimulated by Estrogen and Mechanical Strain, but Their Acute Down-regulation of the Wnt Antagonist Sost Is Mediated by Estrogen Receptor β. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 13, p. 9035, 29 mar. 2013.

GARBER, Carol Ewing *et al.* Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334–1359, jul. 2011.

GERBER, Hans Peter *et al.* VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. **Nature Medicine 1999 5:6**, v. 5, n. 6, p. 623–628, jun. 1999.

GOMBOS, Gabriella Császárné *et al.* Direct effects of physical training on markers of bone metabolism and serum sclerostin concentrations in older adults with low bone mass. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 17, n. 1, p. 254, 8 jun. 2016.

GORMLEY, Shannan E. *et al.* Effect of Intensity of Aerobic Training on VO2max. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 40, n. 5, p. S42, maio 2008.

HEJAZI, Keyvan; RAHIMI, Gholam Rasul Mohammad; HOFMEISTER, Martin. Impact of exercise modalities on bone health: a meta-analysis of aerobic, resistance, and combined training on bone mineral density in postmenopausal women. **Archives of Osteoporosis**, v. 20, n. 1, 2025.

HU, Kai; OLSEN, Bjorn R. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 2, p. 509, 1 fev. 2016.

HUANG, Robert P.; RUBIN, Clinton T.; MCLEOD, Kenneth J. Changes in Postural Muscle Dynamics as a Function of Age. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 54, n. 8, p. B352–B357, 1 ago. 1999.

IKEBUCHI, Yuki *et al.* Coupling of bone resorption and formation by RANKL reverse signalling. **Nature**, v. 561, n. 7722, p. 195–200, 13 set. 2018.

IMAI, Shinji; MATSUSUE, Yoshitaka. Neuronal regulation of bone metabolism and anabolism: Calcitonin gene-related peptide-, substance P-, and tyrosine hydroxylase-containing nerves and the bone. **Microscopy Research and Technique**, v. 58, n. 2, p. 61–69, 15 jul. 2002.

IVANOVA, Stefka *et al.* Osteoporosis: Therapeutic Options. **Folia medica**, v. 57, n. 3–4, p. 181–190, 2015.

JAALOUK, Diana E.; LAMMERDING, Jan. Mechanotransduction gone awry. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 10, n. 1, p. 63–73, 2009.

JANG, Hye-Jeong; YOON, Jeong-Kee. The Role of Vasculature and Angiogenic Strategies in Bone Regeneration. **Biomimetics**, v. 9, n. 2, p. 75, 26 jan. 2024.

JEON, Hyeran Helen *et al.* Inflammation and mechanical force-induced bone remodeling. **Periodontology 2000**, v. 00, p. 1–26, 30 dez. 2024.

JIANG, Yirun *et al.* Circadian Regulation in Diurnal Mammals: Neural Mechanisms and Implications in Translational Research. **Biology**, v. 13, n. 12, p. 958, nov. 2024.

KANALEY, Jill A. *et al.* Cortisol and Growth Hormone Responses to Exercise at Different Times of Day. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 6, p. 2881–2889, 1 jun. 2001.

KANG, Jae Sook *et al.* Exercise-induced CLCF1 attenuates age-related muscle and bone decline in mice. **Nature Communications** , v. 16, n. 1, 2025.

KATSUMI, Akira *et al.* Integrins in Mechanotransduction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 13, p. 12001–12004, 26 mar. 2004.

KAVADIA-TSATALA, Smaro; KAKLAMANOS, Eleftherios G.; TSALIKIS, Lazaros. Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: clinical implications and applications. **The International journal of adult orthodontics and orthognathic surgery**, v. 17, n. 3, p. 191–205, 2002.

KAWAO, Naoyuki *et al.* Roles of Irisin in the Linkage from Muscle to Bone During Mechanical Unloading in Mice. **Calcified Tissue International**, v. 103, n. 1, p. 24–34, 1 jul. 2018.

KELLER, Hansjoerg; KNEISSEL, Michaela. SOST is a target gene for PTH in bone. **Bone**, v. 37, n. 2, p. 148–158, ago. 2005.

KHALID, Aysha B.; KRUM, Susan A. Estrogen receptors alpha and beta in bone. **Bone**, v. 87, p. 130–135, 1 jun. 2016.

KHOSLA, Sundeep. Minireview: The OPG/RANKL/RANK System. **Endocrinology**, v. 142, n. 12, p. 5050–5055, dez. 2001.

KIM, Hyun Ju *et al.* Ovariectomy and timing of impaired maxillary alveolar bone regeneration: An experimental study in rats. **Journal of Periodontology**, v. 91, n. 10, p. 1357–1366, 1 out. 2020.

KLEIN-NULEND, Jenneke *et al.* Mechanosensation and transduction in osteocytes. **Bone**, v. 54, n. 2, p. 182–190, jun. 2013.

KOMORI, Toshihisa. Animal models for osteoporosis. **European Journal of Pharmacology**, v. 759, p. 287–294, 15 jul. 2015.

KOSTENKO, Ernest; POCKEVIČIUS, Alius; MAKNICKAS, Algirdas. Histomorphometry and μCT scan analysis of osteoporosis in spayed female dogs. **Open veterinary journal**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2023.

KRAEMER, William J.; RATAMESS, Nicholas A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 35, n. 4, p. 339–361, 2005.

KRISHNAN, Vinod; DAVIDOVITCH, Ze'ev. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 129, n. 4, p. 469.e1-469.e32, 1 abr. 2006.

LANGDAHL, Bente; FERRARI, Serge; DEMPSTER, David W. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 8, n. 6, p. 225–235, 1 dez. 2016.

LESER, Jenna M. *et al.* Aging, Osteo-Sarcopenia, and Musculoskeletal Mechano-Transduction. **Frontiers in Rehabilitation Sciences**, v. 2, n. December, p. 1–14, 6 dez. 2021.

LIEDERT, Astrid *et al.* Estrogen receptor and Wnt signaling interact to regulate early gene expression in response to mechanical strain in osteoblastic cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 394, n. 3, p. 755–759, 9 abr. 2010.

LIU, Mingdong *et al.* Molecular mechanisms and therapeutic implications of the sympathetic nervous system in bone-related disorders: a brain-bone axis perspective. **Bone Research**, v. 13, n. 1, p. 98, 2 dez. 2025.

LIU, Wei *et al.* Osteoprotegerin Induces Apoptosis of Osteoclasts and Osteoclast Precursor Cells via the Fas/Fas Ligand Pathway. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0142519, 16 nov. 2015.

LIU, Xin Hua *et al.* Cross-Talk between the Interleukin-6 and Prostaglandin E2 Signaling Systems Results in Enhancement of Osteoclastogenesis through Effects on the Osteoprotegerin/Receptor Activator of Nuclear Factor-κB (RANK) Ligand/RANK System. **Endocrinology**, v. 146, n. 4, p. 1991–1998, 1 abr. 2005.

LOMBARDI, Giovanni *et al.* Implications of exercise-induced adipo-myokines in bone metabolism. **Endocrine**, v. 54, n. 2, p. 284–305, 2016.

LOMBARDI, Giovanni; ZIEMANN, Ewa; BANFI, Giuseppe. Physical activity and bone health: What is the role of immune system? A narrative review of the third way. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, p. 1–60, 2019.

MA, Di; WU, Liping; HE, Zhong. Effects of walking on the preservation of bone mineral density in perimenopausal and postmenopausal women. **Menopause**, v. 20, n. 11, p. 1216–1226, nov. 2013.

MACARI, S. *et al.* Osteoprotective Effects of Estrogen in the Maxillary Bone Depend on ERα. **Journal of dental research**, v. 95, n. 6, p. 689–696, 1 jun. 2016.

MADA, Sanusi Bello *et al.* Antioxidative peptide from milk exhibits antiosteopenic effects through inhibition of oxidative damage and bone-resorbing cytokines in ovariectomized rats. **Nutrition**, v. 43–44, p. 21–31, 1 nov. 2017.

MANOLAGAS, Stavros C.; O'BRIEN, Charles A.; ALMEIDA, Maria. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 9, n. 12, p. 699–712, 17 dez. 2013.

MARTIN, Anthony *et al.* Estrogens antagonize RUNX2-mediated osteoblast-driven osteoclastogenesis through regulating RANKL membrane association. **Bone**, v. 75, p. 96–104, 1 jun. 2015.

MCKENZIE, Brennen A. Immunosenescence and Inflammaging in Dogs and Cats: A Narrative Review. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 39, n. 4, p. e70159, 1 jul. 2025.

MEIKLE, Murray C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. **European Journal of Orthodontics**, v. 28, n. 3, p. 221–240, 1 jun. 2006.

MITSIOU, Georgios *et al.* Endothelial progenitor cell mobilization based on exercise volume in patients with cardiovascular disease and healthy individuals: a systematic review and meta-analysis. **European Heart Journal Open**, v. 2, n. 6, p. oeac078, 1 nov. 2022.

MOHAMMED, Ayesha O.; KAKLAMANOS, Eleftherios G. Effect of ovariectomy-induced osteoporosis on the amount of orthodontic tooth movement: a systematic review of animal studies. **European Journal of Orthodontics**, v. 43, n. 6, p. 672–681, 1 dez. 2021.

MOREIRA, Linda Denise Fernandes *et al.* Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 514–522, 2014.

MURAI, I. H. *et al.* Exercise training, creatine supplementation, and bone health in ovariectomized rats. **Osteoporosis International 2015 26:4**, v. 26, n. 4, p. 1395–1404, 14 jan. 2015.

NICHOLSON, Wanda K. *et al.* Screening for Osteoporosis to Prevent Fractures. **JAMA**, v. 333, n. 6, p. 498, 11 fev. 2025.

NORVELL, S. M. *et al.* Fluid Shear Stress Induces ?-Catenin Signaling in Osteoblasts. **Calcified Tissue International**, v. 75, n. 5, p. 396–404, nov. 2004.

NUNES-SILVA, Albená *et al.* Treadmill exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study. **PloS one**, v. 9, n. 5, 5 maio 2014.

OCARINO, N. M. *et al.* Physical activity in osteopenia treatment improved the mass of bones directly and indirectly submitted to mechanical impact. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 7, n. 1, p. 84–93, 2007.

OLADAPO, Bankole I. *et al.* Piezoelectric effects on bone modeling for enhanced sustainability. **Materials Chemistry and Physics**, v. 305, n. April, p. 127960, 2023.

OTA, Kuniaki *et al.* TGF-β Induces Wnt10b in Osteoclasts From Female Mice to Enhance Coupling to Osteoblasts. **Endocrinology**, v. 154, n. 10, p. 3745, 1 out. 2013.

OXLUND, B. S. *et al.* Low-intensity, high-frequency vibration appears to prevent the decrease in strength of the femur and tibia associated with ovariectomy of adult rats. **Bone**, v. 32, n. 1, p. 69–77, 1 jan. 2003.

PAGNOTTI, Gabriel M. *et al.* Combating osteoporosis and obesity with exercise: leveraging cell mechanosensitivity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 6, p. 339–355, 27 jun. 2019.

PARFITT, A. M. Misconceptions (2): turnover is always higher in cancellous than in cortical bone. **Bone**, v. 30, n. 6, p. 807–809, 1 jun. 2002.

PARK, S. B.; LEE, Y. J.; CHUNG, Chun Kee. Bone Mineral Density Changes after Ovariectomy in Rats as an Osteopenic Model : Stepwise Description of Double Dorso-Lateral Approach. **Journal of Korean Neurosurgical Society**, v. 48, n. 4, p. 309, 2010.

PEREIRA, Luciano J. *et al.* Aerobic and resistance training improve alveolar bone quality and interferes with bone-remodeling during orthodontic tooth movement in mice. **Bone**, v. 138, p. 115496, 1 set. 2020.

PEREIRA, Luciano José *et al.* Irisin effects on bone: systematic review with meta-analysis of preclinical studies and prospects for oral health. **Brazilian Oral Research**, v. 36, p. e055, 2022.

PETERSEN, Anne Marie W.; PEDERSEN, Bente Klarlund. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 4, p. 1154–1162, abr. 2005.

PRIOR, Steven J. *et al.* Increased Skeletal Muscle Capillarization Independently Enhances Insulin Sensitivity in Older Adults After Exercise Training and Detraining. **Diabetes**, v. 64, n. 10, p. 3386–3395, 1 out. 2015.

QUEIROZ JÚNIOR, José Reginaldo Alves de *et al.* Histomorfometria da microarquitetura óssea em ratas tratadas com vitamina D e bisfosfonato no manejo da osteoporose. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 57, n. 02, p. 267–272, 11 abr. 2022.
RAMASAMY, Saravana K. *et al.* Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. **Nature Communications**, v. 7, p. 13601, 6 dez. 2016.

RANTALAINEN, Timo *et al.* Effects of bone-specific physical activity, gender and maturity on tibial cross-sectional bone material distribution: a cross-sectional pQCT comparison of children and young adults aged 5–29 years. **Bone**, v. 72, p. 101–108, 1 mar. 2015.

RIAZ, Saima *et al.* Effects of kinect-based virtual reality training on bone mineral density and fracture risk in postmenopausal women with osteopenia: a randomized controlled trial. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 1 dez. 2024.

RIGGS, B. Lawrence; KHOSLA, Sundeep; MELTON, L. Joseph. Sex Steroids and the Construction and Conservation of the Adult Skeleton. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 3, p. 279–302, 1 jun. 2002.

ROBINSON, John A. *et al.* Wnt/β-Catenin Signaling Is a Normal Physiological Response to Mechanical Loading in Bone. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 42, p. 31720–31728, out. 2006.

ROBLING, Alexander G.; CASTILLO, Alesha B.; TURNER, Charles H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. **Annual review of biomedical engineering**, v. 8, p. 455–498, 2006.

ROLVIEN, Tim *et al.* Vitamin D regulates osteocyte survival and perilacunar remodeling in human and murine bone. **Bone**, v. 103, p. 78–87, 1 out. 2017.

ROSENBERG, Nahum; ROSENBERG, Orit; SOUDRY, Michael. Osteoblasts in Bone Physiology – Mini Review. **Rambam Maimonides Medical Journal**, v. 3, n. 2, abr. 2012.

SARAN, Uttara; GEMINI PIPERNI, Sara; CHATTERJEE, Suvro. Role of angiogenesis in bone repair. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 561, p. 109–117, 1 nov. 2014.

SAXON, L. K. *et al.* Estrogen Receptors α and β Have Different Gender-Dependent Effects on the Adaptive Responses to Load Bearing in Cancellous and Cortical Bone. **Endocrinology**, v. 153, n. 5, p. 2254–2266, 1 maio 2012.

SCHEELE, Camilla; NIELSEN, Søren; PEDERSEN, Bente K. ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 95–99, abr. 2009.

SCHINI, Marian *et al.* Bone Turnover Markers: Basic Biology to Clinical Applications. **Endocrine Reviews**, v. 44, n. 3, p. 417–473, 2023.

SEEMAN, Ego. Bone quality: The material and structural basis of bone strength. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 26, n. 1, p. 1–8, 2008.

SHI, Vivian; MORGAN, Elise F. Estrogen and estrogen receptors mediate the mechanobiology of bone disease and repair. **Bone**, v. 188, n. August, p. 117220, 2024.

SINGULANI, Monique Patricio *et al.* Effects of strength training on osteogenic differentiation and bone strength in aging female Wistar rats. **Scientific reports**, v. 7, 17 fev. 2017.

SMITH, J. Kelly. Long-term Exercise and Atherogenic Activity of Blood Mononuclear Cells in Persons at Risk of Developing Ischemic Heart Disease. **JAMA**, v. 281, n. 18, p. 1722, maio 1999.

STEWART, S. *et al.* Mechanotransduction in osteogenesis. **Bone and Joint Research**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2020.

STRINGHETTA-GARCIA, Camila Tami *et al.* The effects of strength training and raloxifene on bone health in aging ovariectomized rats. **Bone**, v. 85, p. 45–54, 1 abr. 2016.

STUCKY, Frédéric *et al.* The Effect of Lower-Body Positive Pressure on the Cardiorespiratory Response at Rest and during Submaximal Running Exercise. **Frontiers in physiology**, v. 9, n. JAN, 30 jan. 2018.

SUAREZ-BREGUA, Paula; GUERREIRO, Pedro Miguel; ROTLLANT, Josep. Stress, glucocorticoids and bone: A review from mammals and fish. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. SEP, p. 403903, 10 set. 2018.

TADDEI, Silvana Rodrigues de Albuquerque *et al.* Experimental model of tooth movement in mice: A standardized protocol for studying bone remodeling under compression and tensile strains. **Journal of Biomechanics**, v. 45, n. 16, p. 2729–2735, 15 nov. 2012.

TAGLIAFERRI, Camille *et al.* Muscle and bone, two interconnected tissues. **Ageing Research Reviews**, v. 21, p. 55–70, 1 maio 2015.

TAGUCHI, Akira *et al.* Risk of vertebral osteoporosis in post-menopausal women with alterations of the mandible. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 36, n. 3, p. 143–148, 1 mar. 2007.

TANAKA, M. *et al.* Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. **Journal of Periodontal Research**, v. 37, n. 2, p. 161–165, 2002.

TANAKA, Yoshiya; NAKAYAMADA, Shingo; OKADA, Yosuke. Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation. **Current drug targets. Inflammation and allergy**, v. 4, n. 3, p. 325–328, jun. 2005.

TERASHIMA, Asuka; TAKAYANAGI, Hiroshi. Overview of Osteoimmunology. **Calcified Tissue International 2018 102:5**, v. 102, n. 5, p. 503–511, 27 mar. 2018.

TOBEIHA, Mohammad *et al.* RANKL/RANK/OPG Pathway: A Mechanism Involved in Exercise-Induced Bone Remodeling. **BioMed research international**, v. 2020, 2020.

TONG, Xiaoyang *et al.* The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

VARAHRA, A. *et al.* Exercise to improve functional outcomes in persons with osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. **Osteoporosis International 2018 29:2**, v. 29, n. 2, p. 265–286, 6 jan. 2018.

WEITZMANN, M. Neale; PACIFICI, Roberto. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 5, p. 1186–1194, 1 maio 2006.

WIIK, A. *et al.* Expression of oestrogen receptor alpha and beta is higher in skeletal muscle of highly endurance-trained than of moderately active men. **Acta physiologica Scandinavica**, v. 184, n. 2, p. 105–112, jun. 2005.

WIIK, A. *et al.* Expression of both oestrogen receptor alpha and beta in human skeletal muscle tissue. **Histochemistry and Cell Biology 2008 131:2**, v. 131, n. 2, p. 181–189, 30 set. 2008.

WISE, G. E.; KING, G. J. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. **Journal of dental research**, v. 87, n. 5, p. 414–434, maio 2008.

XIAO, P. L. *et al.* Global, regional prevalence, and risk factors of osteoporosis according to the World Health Organization diagnostic criteria: a systematic review and meta-analysis. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, v. 33, n. 10, p. 2137–2153, 1 out. 2022.

XING, Liangyu *et al.* Targeted disruption of PRC1.1 complex enhances bone remodeling. **Nature communications**, v. 16, n. 1, 1 dez. 2025.

XU, Jincheng *et al.* Effects of Exercise on Bone Status in Female Subjects, from Young Girls to Postmenopausal Women: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses. **Sports Medicine 2016 46:8**, v. 46, n. 8, p. 1165–1182, 8 fev. 2016.

YAMASHIRO, T.; TAKANO-YAMAMOTO, T. Influences of Ovariectomy on Experimental Tooth Movement in the Rat. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 9, p. 1858–1861, 1 set. 2001.

ZEHRA, Gümrükçüoğlu *et al.* Exercise modulates local inflammation and tissue loss in experimental periodontitis: A histomorphometric and immunohistochemical study in ra. **Archives of Oral Biology**, v. 181, p. 106435, 1 jan. 2026.

ZENG, M. *et al.* Orthodontic Force Induces Systemic Inflammatory Monocyte Responses. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 9, p. 1295–1302, 24 set. 2015.

ZHANG, Huajing; ZHANG, Ding. Effects of Periodontal Ligament Cells on Alveolar Bone Metabolism under the Action of Force and Inflammatory Factors and Its Molecular Mechanisms. **Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae**, v. 39, n. 3, p. 432–437, 20 jun. 2017.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DE PROJETO NO COMITÊ DEÉTICA NO USO DE ANIMAIS

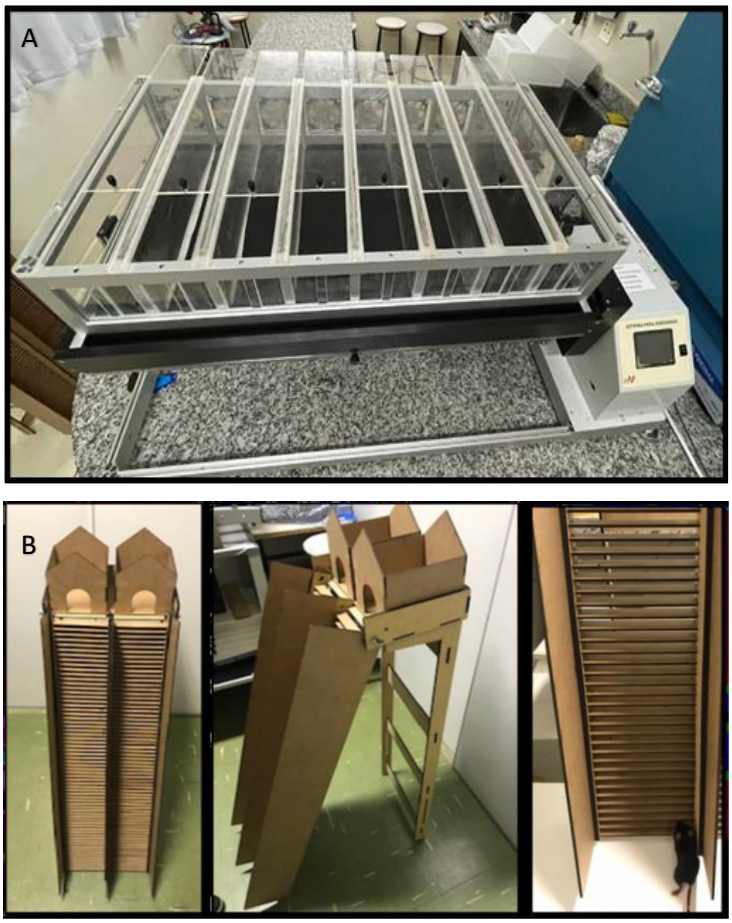
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÕES PERMANENTES
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Movimentação ortodôntica, menopausa e exercício físico – aspectos microtomográficos, imunohistoquímicos e moleculares em camundongos fêmea ovariectomizada " protocolo nº 013/21, sob a responsabilidade de Luciano José Pereira, Pedro Gustavo Machado, Luciana Botelho Ribeiro e Ivam Moreira de Oliveira Júnior, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 28/04/2022.

Vigência da autorização: de 01/08/2022 a 01/08/2024
Finalidade: ( ) Ensino (x) Pesquisa Científica
Espécie/linhagem/raça: Camundongo
Número de animais aprovados: 112
Peso/Idade: 20g / 8 semanas
Sexo: fêmea
Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA)

Rafael Neodini Remedio

Prof. Rafael Neodini Remedio
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

ANEXO B – ESTEIRA (A) E ESCADAS (B) UTILIZADAS PARA OS TREINOS AERÓBICOS E DE RESISTÊNCIA, RESPECTIVAMENTE